

304.441

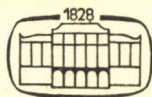
Biológiai Közlemények

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XXI. kötet

1—2. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1973

Szerkesztő bizottság;

ÁCS TAMÁS, BÁLINT ANDOR, GUBA FERENC
KISZELY GYÖRGY, KOVÁCS JÁNOS, TÖRÖK LÁSZLÓ

Technikai szerkesztő:

BALÁZS ANDRÁS

Következő, 1974-es kötetünk tartalmilag és technikailag korszerűsített alakban, **BIOLÓGIA** címen jelenik meg. A BIOLÓGIA elsősorban az *elméleti és molekuláris biológia, sejttan, öröklés, kísérletes onto- és filogenetika* tárgyköréből közöl cikkeket.

A dolgozatok következő típusait részesítjük előnyben;

1. *teoretikus* cikkek;
2. *munkacsoportok kísérleteinek* ismertetése, ilyen jellegű munkák esetében a koncepció kifejtésének széles teret biztosítunk;
3. a molekuláris biológia valamely részterületének legújabb irodalmát összegező (*review*) dolgozatok,
4. az adott formában másutt nem publikált eredeti *kísérleti* beszámolók.

A lap ezenkívül *vitákat* indító cikkeket és azokhoz kapcsolódó leveleket, *könyvismertetéseket* és *kongresszusi beszámolókat* is közöl.

Jelen számunk összeállításában az új Szerkesztő bizottság tagjai is részt vettek.

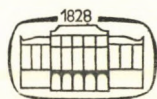
BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XXI. kötet

1—2. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1973

A VISSZAJELZÉSEK TERMÉSZETE ÉS JELLEMZÉSE HELIX POMATIA DIFFÚZ MIOGÉN RITMUSÚ SZÍVÉBEN

S. RÓZSA KATALIN

MTA Biológiai Kutatóintézete, Tihany

Beérkezett: 1972. június 24-én

Az extrakardiális innerváció és a szív automatizmusa között kialakult kapcsolat révén a szív működése a központi idegrendszer szabályozó hatása alatt áll. Magasabbrendű állatokon e reflexkapcsolat centrális és perifériás eleme egyaránt ismert. Gastropodákon főként az extrakardiális ideg efferens vonatkozásait vizsgálták (Cardot, 1909; Raffo, 1929; Suzuki, 1935; Krijgsman, 1941; Schlote, 1954; Ripplinger, 1957; S. Rózsa és Graul, 1964), azonban a szív reflexogén zónáiból az idegközpontba küldött információ természete nem tisztázott. A szívizom taktilis-, nyomás-, ozmo- és kemo-érzékenysége izolált szíven került leírásra (Krijgsman, 1955). Helix szíven a reflexív működésére vonatkozóan is csak a központban megvalósuló koordináció alapján következtettek (Zubkov, 1935). Történtek kísérletek intakt extrakardiális idegen afferens és efferens jelzések elkülönítésére más Gastropoda fajokon, de ezek főként taktilis receptor-zónákat érintettek (Nisbet, 1961; Baxter és Nisbet, 1963; DeVlieger, 1970), és azok központi képviselőjének lokalizációjával foglalkoztak.

Jelen vizsgálatunk célja Helix pomatia szíven a reflexogén zónák feltárása volt, és annak megállapítása, hogy mely környezeti tényezők indítanak jelzéseket a szívből az idegközpontba és milyen e jelzések természete.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat Helix pomatia éber egyedein végeztük szeptember-október hónapokban, szobahőmérsékleten (20—22° C).

A szívet az intestinalis ideggel együtt kipreparáltuk, a korábban leírt módon (S. Rózsa és Graul, 1964). Egyes esetekben megőriztük az intestinalis ideg kapcsolatát a központi idegrendszerrel. A véna pulmonalisba és a kamra aortához közeli részébe vékony kanült kötöttünk, s a szívet csigaszívre adaptált béka-Ringer-oldattal (Turpaev et al. 1967) áramoltattuk át. A vizsgálandó anyagokat a perfúzióba adtuk, változatlan nyomás mellett. A nyomásváltozás hatását külön kísérletben, a perfúziós folyadékoszlop magasságának változtatásával vizsgáltuk. A kísérletek során taktilis, nyomás, kémiai és ozmotikus ingereket alkalmaztunk. Taktilis ingert vékony ecset szívfelszínhez érintésével, nyomásingert a perfúziós folyadékoszlop magasságának variálásával hoztunk létre. Az ozmoreceptorok ingerlésére 5%-os NaCl-t és glukózt, a kemorecep-

torok vizsgálatánál pedig 5-hydroxytryptamint (5HT) juttattunk a szív belső felszínére.

Az intestinális ideg aktivitását bipoláris elvezetésben vizsgáltuk oly módon, hogy az ideget ezüst-ezüstklorid elektródákra helyeztük. A kísérletekhez ALVAR gyártmányú erősítőt, oszcilloszkópot és fotorekordert használtunk.

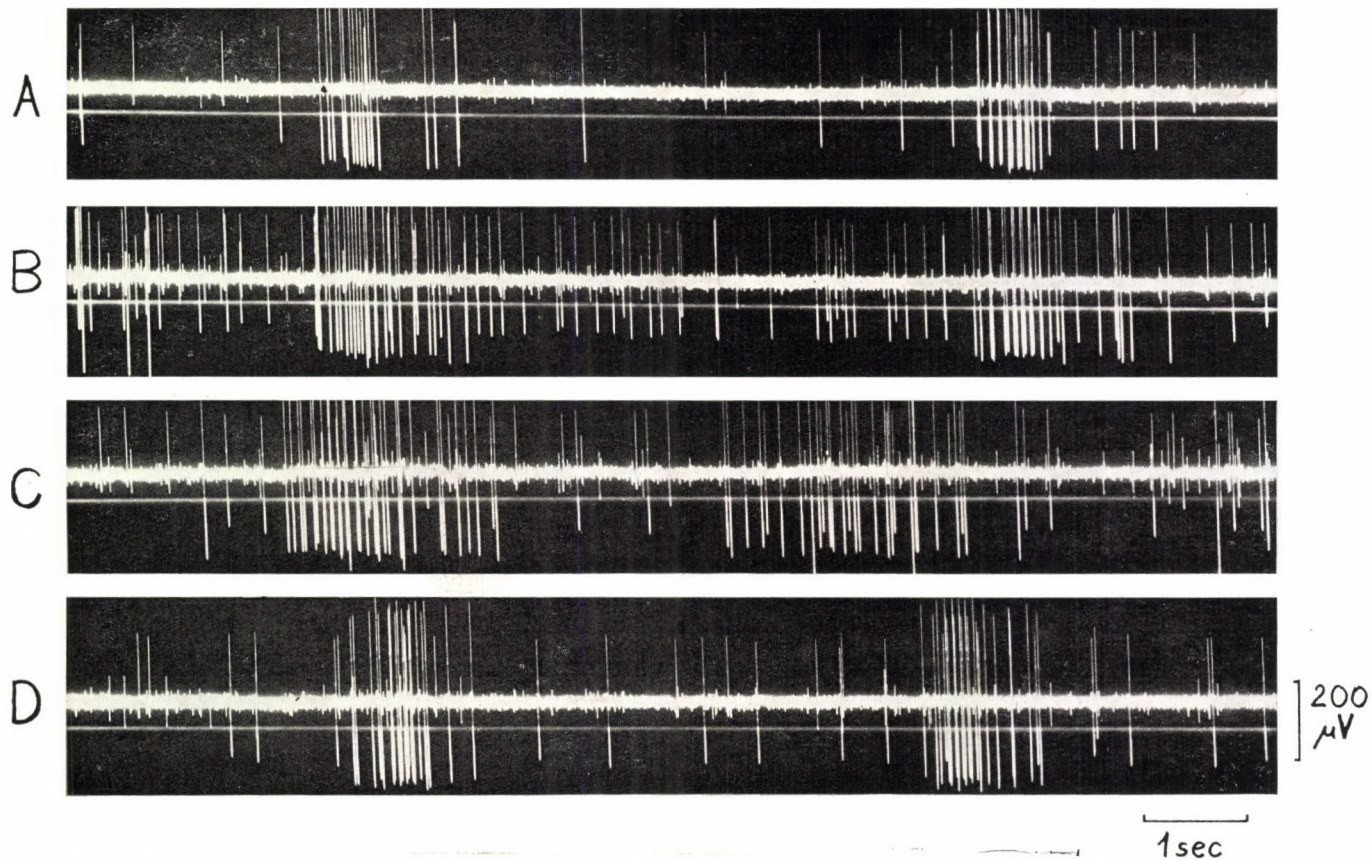
Eredmények

1. Az intestinális ideg spontán bioelektromos aktivitása

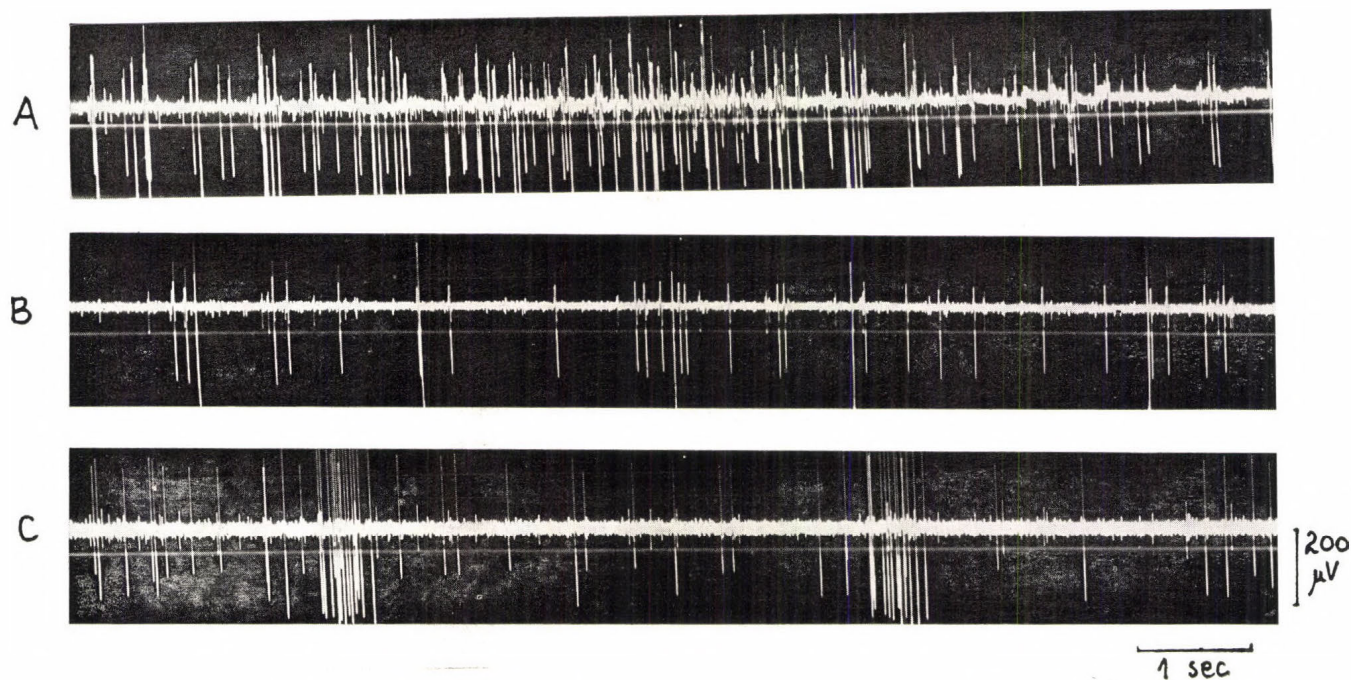
A központi idegrendszert is magukba foglaló preparátumokon az intestinális ideg aktivitása összetett mind frekvenciáját, mind amplitúdóját tekintve (1. ábra). Legnagyobb frekvencia és amplitúdó variációt az intestinális ideg abdominális ganglionból való kilépése után találtunk, mely szinten minden ki- és befutó jel képviselve van. Az intestinális ideg eredési helyén 7–8 eltérő amplitúdójú impulzáció különíthető el. A frekvencia változékony, értéke 12–21 imp/sec.

A cerebrális, majd a garat alatti ganglionok eltávolítása után a kép egyszerűsödik, s egyidejűleg dominánssá válik a 150–300 μ V amplitúdó-érték (1. ábra B). Az ideg proximális részének eltávolítása esetén a potenciálok frekvenciája csökken. Közvetlenül az intestinális ideg szívhez való leágazása előtt az aktivitás már kevésbé összetett, az elvezethető potenciálok az amplitúdó alapján három csoportba oszthatók. Az első csoportban az akciós potenciálok nagysága eléri a 450–500 μ V-ot, a második csoportban 300 μ V-ig terjednek, a harmadik csoportban azonban az akciós potenciálok amplitúdója mindössze 50 μ V (1. ábra C). Ezen a szinten és a ganglionhoz közel eső idegszakaszokon még jellegzetes, szinkron működő sejtek potenciáljait regisztráljuk, különösen a második nagyságrendű potenciálsorban (1. ábra A, B, C). Az akciós potenciálok közelsége azt sugallja, hogy itt csupán egy szinaptikus áttevődésnek megfelelő késés van a két akciós potenciál között s azok feltehetően két csatoltan működő sejtből származnak. Ha az intestinális idegnek csak a szívhez menő ága marad meg, akkor már nem mutatható ki e szinkron működés (1. ábra D).

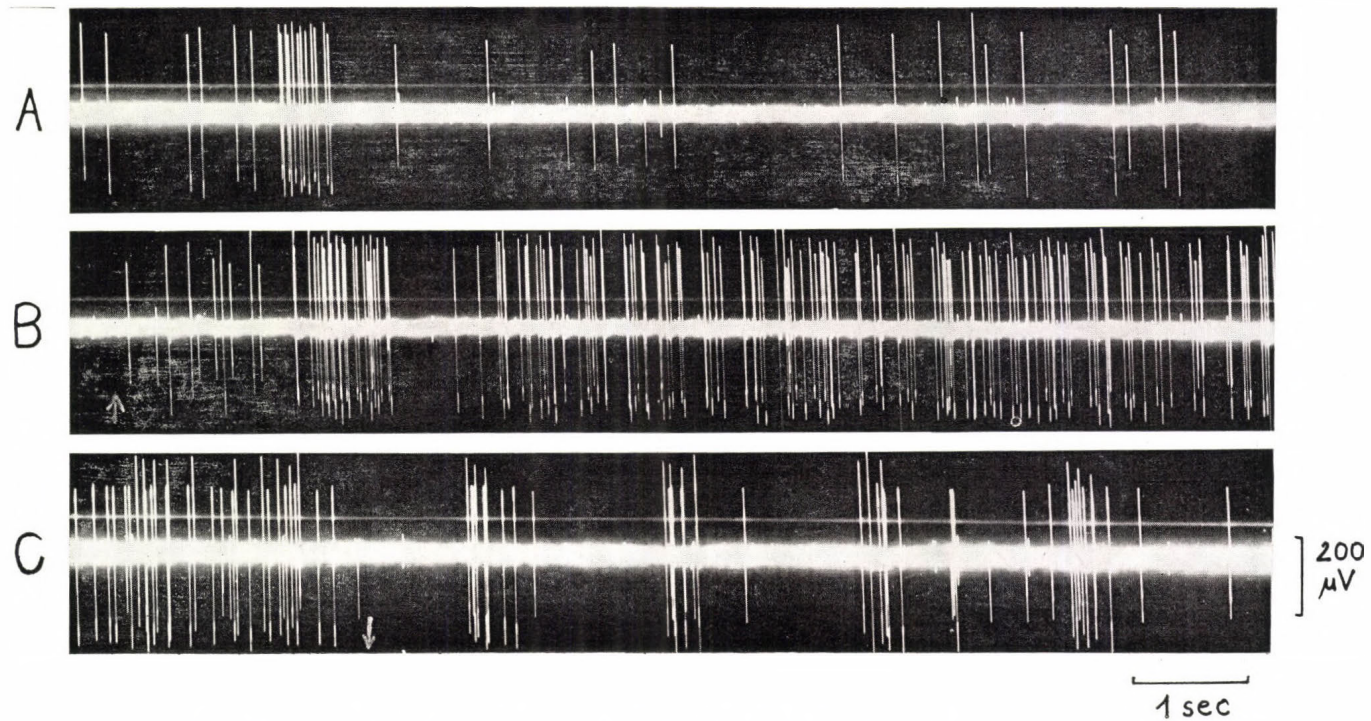
Az esetben, ha csupán az intestinális ideg szívhez menő ágáról vezetünk el, miután annak kapcsolatát a központi idegrendszerrel megszüntettük, az aktivitási minta is tovább egyszerűsödik. Ekkor egy sajátos szív-extra-kardiális ideg preparátummal van dolgunk, melynek afferens pályáján pontosan nyomon követhetők a szívet ért hatások. Kontroll körülmények között az intestinális ideg szívhez menő ágáról háromféle, amplitúdóban jól elkülöníthető akciós potenciál vezethető el (2. ábra B), ahol a harmadik lényegesen kisebb amplitúdójú potenciál, mint az első kettő. Más esetekben az akciós potenciálok „burst”-szerű rendezettségben futnak a központ felé (2. ábra C). A „burst”-ök eltérő nagyságú akciós potenciálok közé is ékelődhetnek (3. ábra A). Úgy tűnik, hogy a harmadik potenciáltípus (~ 50 μ V) a perikardium megmaradó részeinek aktivitását tükrözi.



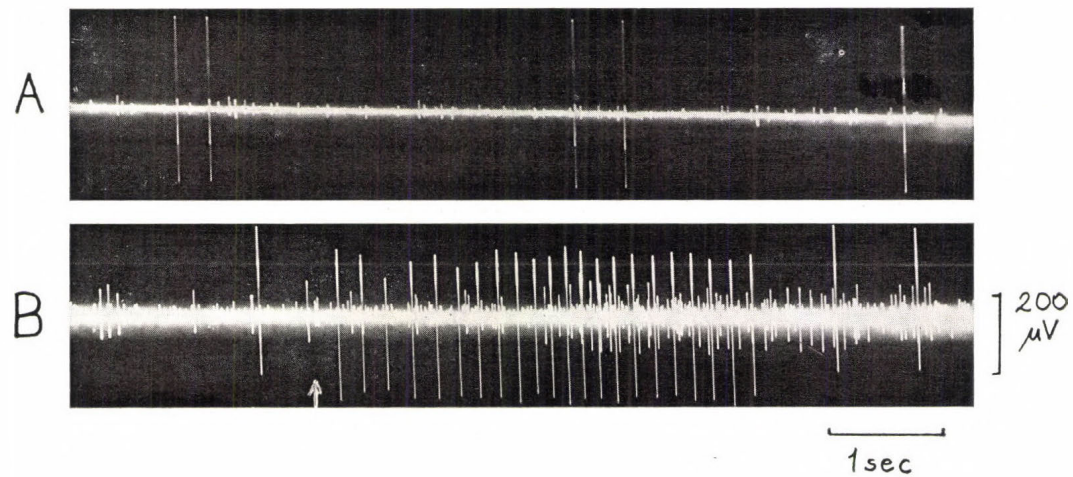
1. ábra. Az intestinális ideg aktivitás-mintázata a központi idegrendszerrel való ép, majd megszűnt kapcsolat mellett. A — bioelektromos aktivitás közvetlenül az ideg viscerális ganglionból való kilépése után. B — az ideg aktivitása a cerebrális ggl. eltávolítása után. C — az intestinális ideg aktivitása a CNS teljes eltávolítása után. D — az intestinális ideg szívhez menő szakaszának aktivitása



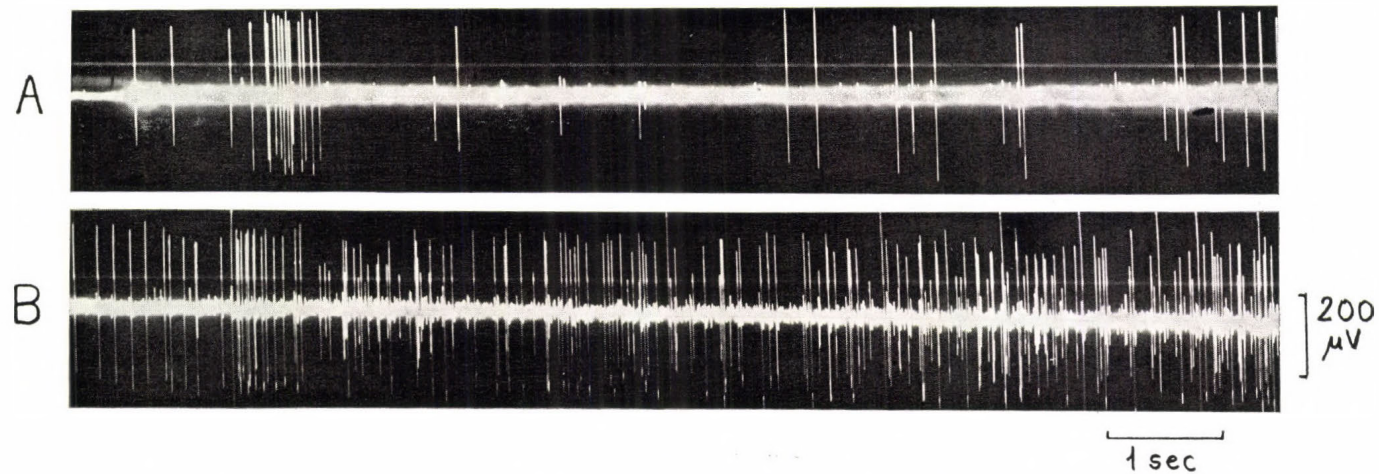
2. ábra. Az intestinális ideg aktivitása. A — elvezetés az általános idegtörzsről a viscerális ggl. közelében,
B és C — a szívhez menő ág aktivitása



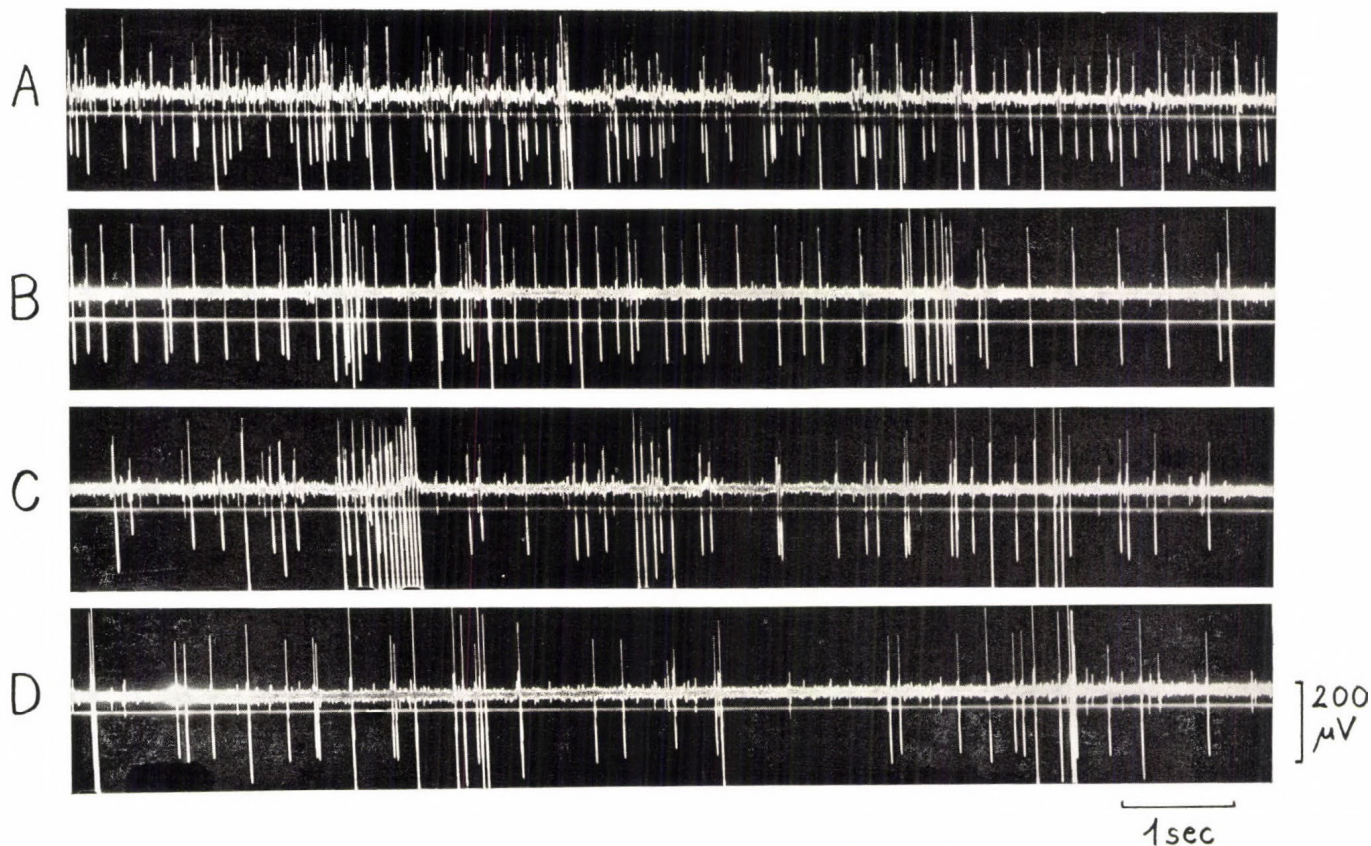
3. ábra. Az intestinális ideg afferens válasza taktilis inger hatására. A — kontroll aktivitás, B — taktilis inger kezdete \uparrow , C — taktilis inger vége \downarrow , majd ingerlés utáni állapot



4. ábra. Perfúziós nyomás hatása. A — kontroll, B — \uparrow a perfúziós nyomás növelése az eredeti érték kétszeresére



5. ábra. 5%-os NaCl hatása az intestinális ideg afferens jelzéseire. A — kontroll, B — 5%-os NaCl hatása



6. ábra. 5 HT hatása a szívre 10^{-7} M koncentrációban. A — kontroll, B — 5 HT hatásának kezdete 10^{-7} M koncentrációban, C — ua., mint B 2 perc múlva, D — intestinális ideg aktivitása a szív hosszas mosása után

2. Az intestinális ideg bioelektromos aktivitása a szív környezeti tényezőinek változására

Taktilis inger és perfúziós nyomásváltozás hatása

Megállapítottuk, hogy a *Helix* szív érzékenyen reagál a szívfelszint ért taktilis ingerre, amely abban nyilvánul meg, hogy afferens jelzés indul a központi idegrendszer felé. Legintenzívebb afferens impulzáció a pitvar—kamra határ, valamint a kamra csúcs ingerlésére indul. Az inger hatására az intestinális ideg közepes és nagyméretű akciós potenciáljainak amplitúdója és frekvenciája nő meg (3. ábra). A taktilis ingerre fellépő, központ felé haladó impulzáció az ingerlés alatt folyamatosan tart, de a szív aktivitását kísérő „burst”-sorok még az ingerlés megszűnte után is gyakoribbak maradnak, mint a kontrollban (3. ábra C).

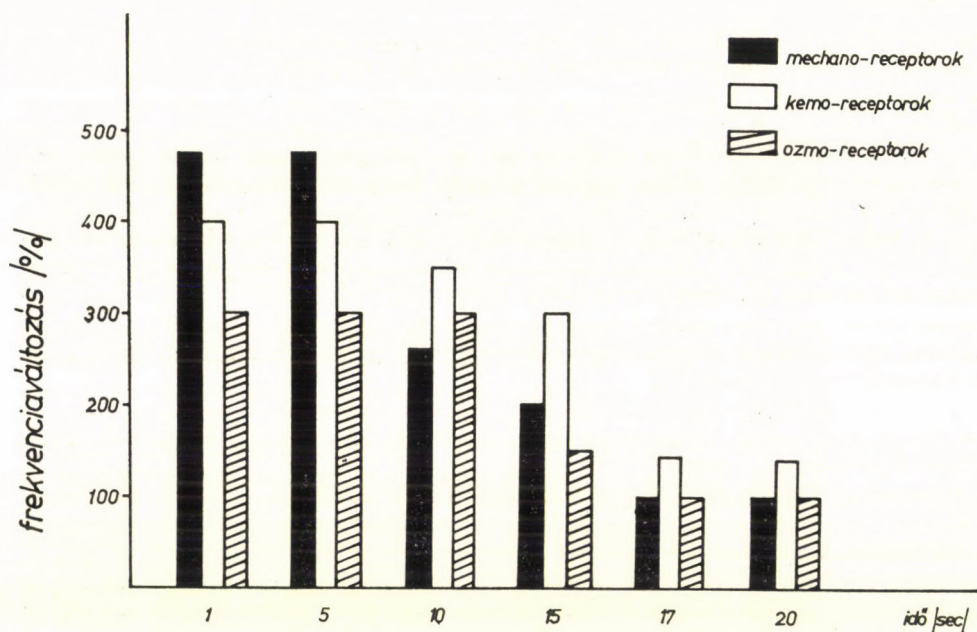
A perfúziós nyomás változtatása ettől eltérően csak az egyikfajta akciós potenciál mintázatát változtatja meg, és pedig a kontrollban nagyobb amplitúdóval jelentkező, „burst”-ökbe rendezett potenciálokat (4. ábra). Ez esetben a közepes és kis amplitúdójú potenciálok amplitúdójában és frekvenciájában változást nem lehetett kimutatni. A nagy amplitúdójú potenciálok burst-szerű megjelenése a nyomás növelésének hatására megszűnik, frekvenciájuk megnő és egyenletesebbé válik (4. ábra B). Ez a frekvencianövekedés azonban nem tartós, a szív gyorsan adaptálódik a perfúziós nyomás növekedéséhez, s ekkor egy új, esetleg a kontroll szinthez közeli aktivitásformát mutat.

Ozmo- és kemoreceptorok ingerlésének hatása

A *Helix* szív reagál a környezetében fellépő ozmotikus változásokra is. Az ozmotikus nyomás növekedésével a jelzések intenzívvé és állandóvá válnak. Az ideg akciós potenciáljai ozmotikus hatásra mutatnak legnagyobb amplitúdó variációt (5. ábra B), míg a frekvencianövekedés mértéke alacsonyabb a taktilis ingerre fellépő reakció intenzitásánál. Az ozmotikus hatásra bekövetkezett változások tartósak, az inger megszűnte után a jelzések lassan csökkennek, feltehetően a szívben a normális ozmotikus viszonyok restitúciójával megegyező mértékben. Az ozmoreceptorok jelenlétét mind glukóze, mind NaCl hozzáadásával igazolni tudtuk, s a jelzések mindkét esetben azonosak.

A *Helix* szív legismertebb serkentője, az 5-hydroxytryptamin (5HT) 10^{-9} M küszöbkonzentrációtól kezdődően intenzív afferens impulzációt vált ki az intestinális ideg szívhez közeli szakaszán. Az 5HT is a két legnagyobb amplitúdójú akciós potenciál frekvenciáját és nagyságát növeli meg (6. ábra B). Az 5HT hatása elnyújtott, eltávolítása és kimosása után hosszú ideig nem tér vissza a kontroll szintre az afferens jelzés (6. ábra D).

A taktilis, ozmotikus valamint 5HT effektus időbeli lefutását a 7. ábra grafikonja összegzi. Jól látszik, hogy mindegyik esetben lassan adaptálódó receptorokkal van dolgunk. A maximálisan kiváltható frekvencianövekedés taktilis inger alkalmazása esetén volt a legnagyobb, ezt követte a kemoreceptorok majd az ozmoérzékeny receptorzónák ingerlése. Mindhárom ingerféleség alkalmazása esetén minden vagy semmi jellegű a központ felé haladó afferens impulzáció, s a reakció erőssége az inger alkalmazásának első öt másodpercében gyakorlatilag nem csökken (7. ábra). Azután az adaptáció előrehaladásával a válasz intenzitása mérséklődik, mechano-, és ozmoreceptorok esetében gyorsabban, míg a kemoreceptorok érzékenysége igen lassan csökken. 5HT alkalmazás esetén még 3—5 perces kezelés után is megnöve-



7. ábra. Adaptáció mechano-, kemo- és ozmoreceptorok ingerlése esetén.
A diagramok 5 kísérlet átlagának felelnek meg

kedett afferens impulzáció figyelhető meg, amely csak hosszadalmas mosás után szűnik meg.

Minden ábrán látható, hogy az alapvonalból alig kiemelkedő rendezetlen frekvenciájú és amplitúdójú elektromos aktivitás nem változik a fenti behatásokra. Ennek alapján állíthatjuk, hogy ez nem szív eredetű, hanem esetleg perikardiális, mely terület afferens beidegzése ugyancsak az intestinális ideg szívhöz leágazó szakaszán át valósul meg. Ennek aktivitása a szívet ért behatásokra nem változik.

Megbeszélés

Az eredmények igazolták, hogy a diffúz miogén pacemakerrel rendelkező *Helix* szív hasonló receptor zónákkal rendelkezik, mint a magasabbrendűek szíve. Bizonyítást nyert, hogy a *Helix* szív taktilis, nyomás-, ozmo- és kemoingerek érzékelésére alkalmas végkészülékeket tartalmaz, melyek reagálnak a környezeti tényezők megváltozására. Ez a válasz az inger minőségétől és intenzitásától függ. A reakció típusa minden esetben elsődleges érző neuron jelenlétére utal (Grundfest, 1971), s minden vagy semmi jellegű.

Minden alkalmazott ingerféleség hatására nőtt az afferens jelzések amplitúdója és frekvenciája. Az amplitúdó változás jellege taktilis- és ozmo-, illetve nyomás- és kemo-ingerek alkalmazásakor hasonlóságot mutatott. Az első két receptor ingerlése esetén az amplitúdó növekedése nagyobb és egységesebb volt. Legnagyobb mérvű frekvencianövekedés a taktilis inger alkalmazásakor lépett fel, ezt követte a kemo- majd az ozmoreceptorok ingerületbe jutása. Legkisebb frekvenciaönvekedést a perfúziós nyomás változ-

tatása okozott. A vizsgált receptorok, a nyomásérzékeny végkészülékek kivételével, a lassan adaptálódó receptorok csoportjába tartoznak. Ezen belül is a kemoreceptorok adaptációja megy végbe leglassabban (7. ábra). A megváltozott nyomásviszonyokhoz a szív 1—5 sec alatt adaptálódik és megszűnneti a fokozott afferens jelzést (4. ábra), míg a taktilis és ozmoreceptorok válasza az ingerlés alatt, kemoreceptorok reakciója pedig az ingeranyag kimosása idején is megmarad. Adaptációval összefüggő amplitúdó és frekvencia csökkenés a hatás első 5 sec-ában hiányzik és a következő 5 sec-ban sem jelentős (7. ábra). Mindezek alapján a taktilis, ozmo és kemoreceptorokat lassan adaptálódó receptoroknak tarthatjuk *Helix* szíven. Azt azonban az itt ismertetett fiziológiai vizsgálatok alapján nem tudjuk eldönteni, hogy közös vagy specializált felvevő végkészülék indítják-e az afferens jelzést a különböző ingerekre. Egyes vélemények szerint gerinctelenek szívében nincsenek specializált receptorzónák (lásd: Koshtoyants, 1955). Az afferens impulzusok amplitúdói alapján azonban legalább két eltérő felvevő végkészülékkel számolni kell *Helix* szívében. A *Helix* szív extrakardiális idegéről kontroll körülmények között elvezetett kétfajta afferens potenciál is a két reflexogén zóna jelenlétére utal.

Az eredmények azt mutatják, hogy Gastropodák szív működésének szabályozása fejlett afferens jelzésre épül. E jelzések közlik a központi idegrendszerrel a szív környezetében létrejött változásokat, melynek birtokában az modulálja a szív működését. Egyéb mollusca fajokon bizonyították, hogy „excitatory junctional potential (EJP)” modulálja a szív működését és az AP generálását (Kuwasawa és Matsui, 1970). *Helix* szíven is az extrakardiális innerváció afferens és efferens komponenseinek koordinált működése képezi alapját a szabályozásnak. E szabályozás perifériás részén a felvevő és továbbító elemek ugyanazon működési egységeit találjuk, mint magasabbrendűeken. A *Helix* központi idegrendszer viszonylag egyszerűbb szerkezete, valamint a szívhez direkt rostokat küldő központi neuronok lokalizációjának ismerete (Gubicza és S. Rózsa, 1969; 1971) lehetőséget nyújthatnak e szabályozó kör centrális elemének vizsgálatára is, mely közelebb vihet a szív működés regulálásának megértéséhez.

Összefoglalás

Helix szív-extrakardiális ideg készítményen vizsgálták az afferens jelzések természetét. Megállapították, hogy kontroll körülmények között háromféle amplitúdójú afferens jelzés halad a központi idegrendszer felé az intestinális ideg szívhez menő ágán, melyek közül kettő szíveredetű. Ha a szívet taktilis, nyomás, ozmotikus vagy kémiai inger éri az intestinális idegen minden vagy semmi jellegű akciós potenciálsorok indulnak a központi idegrendszer felé. Legnagyobb mérvű frekvencianövekedést a taktilis receptorok ingerlése esetén figyeltek meg (~500%), ezt követték a kemoreceptorok (~400%), az ozmoreceptorok (~300%), majd a nyomásreceptorok (~200%). A taktilis, kemo- és ozmoreceptorokat a lassan adaptálódó, a nyomásreceptorokat a gyorsan adaptálódó receptorok csoportjába sorolják. Legalább két eltérő felvevő végkészülék jelenlétét tetelezzik fel *Helix pomatia* szívében. A szív reflexogén zónáit magasabbrendűek hasonló képződményeivel analógnak tartják.

- BAXTER M. I., R. H. NISBET (1963): Features of the nervous system and heart of Archachatina revealed by the electron microscope and by electrophysiological recording. — *Proc. Malac. Soc. Lond.*, **35**, 167—177.
- CARDOT H. (1909): Réactions du coeur de quelques Mollusques à l'excitation électrique. — *J. Physiol. Path. gén.*, **11**, 787.
- DE VLIJGER T. A. (1970): Postganglionic responses upon tactile stimulation in Lymnaea stagnalis (L.). — *Neth. J. Zool.*, **20**, 492—495.
- GRUNDFEST H. (1971): The general electrophysiology of input membrane in electrogenic excitable cells. — *Handbook of Sensory Physiology. Principles of receptor Physiology*. Vol. 1. Ed. W. R. Loewenstein. Springer Verlag, Berlin Chapter 4. 135—165.
- GUBICZA A., K. S. RÓZSA (1969): Identification of central neurons innervating the heart of Lymnaea stagnalis L. (Gastropoda). — *Annal. Biol. Tihany*, **36**, 3—10.
- GUBICZA A., K. S. RÓZSA (1971): Direct axonal connections in the central nervous system of Lymnaea stagnalis L. — *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **22**, 33—41.
- KOSHTOYANTS H. SZ. (1955): Az összehasonlító élettan alapjai. — Akadémiai Kiadó, Budapest.
- KRIJGSMA B. J. (1941): Electrophysiologische Untersuchungen über das Nervensystem der Mollusken. I. Reizversuche am isolierten Nerven von Helix pomatia. — *Zeit. Vergl. Physiol.*, **28**, 286—325.
- KRIJGSMA B. J. (1955): Contractile and pacemaker mechanisms of the heart of Molluscs. — *Biol. Rev.*, **30**, 1—39.
- KUWASAWA K., K. MATSUI (1970): Postjunctional potentials and cardiac acceleration in a Mollusc (Dolabella auricula). — *Experientia*, **26**, 1100—1101.
- NISBET R. H. (1961): Some aspect of the neurophysiology of Archachatina (Calachatina) marginata (Swainson). — *Proc. Royal Soc. B*, **154**, 309—331.
- RAFFO L. F. (1929): Azione di alcune condizioni fisiche sulla funzionalità cardiaca dei gastropodi. — *Pathologia*, **21**, 225.
- RIPPLINGER J. (1957): Contribution à l'étude de la physiologie du coeur et de son innervation extrinsèque chez l'escargot (Helix pomatia). — *Ann. Sci. Univ. Besancon*, 2^m série, **8**, 1—179.
- S. RÓZSA K., C. GRAUL (1964): Is serotonin responsible for the stimulative effect of the extracardial nerve in Helix pomatia? — *Annal. Biol. Tihany*, **31**, 85—96.
- SCHLOTE F. W. (1954): Die Erregungsleitung im Gastropodennerven und ihr histologisches Substrat. — *Zeit. Vergl. Physiol.*, **37**, 373—415.
- SUZUKI S. (1935): The innervation of the heart of molluscs. — *Sci. Rep. Thoku Univ. (Japan)* **10**, 15—27.
- Турпаев Т. М., С. Н. Нистратова, Т. Г. Путинцева (1967): Особенности выхода сердца беззубки и виноградной улитки из ацетилхолинового торможения. — *Ж. Эвол. Биохим. Физиол.* **3**, 40—46.
- ZUBKOV A. A. (1935): Materialien zur vergleichenden Physiologie des Herzens. II. Die Rolle des zentralen Nervensystems in der Herztätigkeit der Helix pomatia. — *Fiziol. Z.*, **17**, 293—313.

ПРИРОДА И ХАРАКТЕРИСТИКА МЕХАНИЗМА ОПРАТНОЙ СВЯЗИ В СЕРДЦЕ HELIX POMATIA ИМЕЮЩЕГО ДИФфуЗНЫЙ МИОГЕННЫЙ РИТМ

К. III. Рожа

Установлено, что в норме афферентные сигналы с тремя разными амплитудами из которых 2 происходят из сердца, направлены к центральной нервной системе по пути ведущему к сердцу от интестинального нерва. Если действие на сердце осязательное, тактильное, осмотическое, химическое раздражения вдоль интестинального нерва проходят к центральной нервной системе ряды потенциалов действия по закону «всё или ничего». Наблюдали рост частоты в наибольшей мере в случае раздражения тактильных рецепторов (500%), за ними следуют хеморецепторы (400%), осморецепторы (300%) и рецепторы растяжения (200%). Тактильные, хемо и осморецепторы причислены к группе медленно адаптирующихся, а рецепторы растяжения к группе быстро адаптирующихся рецепторов. Предполагается наличие не менее двух разных приемных концевых аппаратов в сердце Helix pomatia. Рефлексогенные зоны этого сердца считаются аналогами таковым, образующимся у высших животных.

THE NATURE AND CHARACTERIZATION OF FEED-BACK MECHANISM IN THE HEART OF HELIX POMATIA WITH DIFFUSE MIOGEN RHYTHM

K. S. Rózsa

The nature of afferent signals was studied on a *Helix* heart-extracardial nerve preparation. It was stated, that under control circumstances there are three kinds of afferent signals of different amplitudes passing toward the central nervous system along the branch of the intestinal nerve leading to the heart. Two of these signals are of cardiac origin. In case of tactile pressure, osmotic or chemical stimulation of the heart, all or nothing action potential lines start toward the central nervous system on the intestinal nerve. The greatest growth of frequency was observed in a case of the stimulation of the tactile receptors (500%), then by chemoreceptors (400%), by osmoreceptors (300%) and finally by baroreceptors (200%). The tactile, chemo- and osmoreceptors are ranked among the slowly adapting, the baroreceptors among the quickly adapting group of receptors. At least two different kinds of receptive end apparatus is supposed to be present in the heart of *Helix pomatia*. The reflexogen zones of this heart are considered to be analogous with the similar formations of higher animals.

IN VITRO TENYÉSZTETT SEJTVONAL ELŐÁLLÍTÁSA DROSOPHILA EMBRIÓBÓL

PARÁDI ELEMÉR

Eötvös Loránd Tudományegyetem Származás- és Örökléstan Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1973. február 6-án

Bevezetés

Az elmúlt 10 évben a gerinctelenek sejt- és szervkultúrái iránt megnőtt az érdeklődés. Ezt a növekedés és differenciáció problémájának vizsgálatában elfoglalt fontos szerepük indokolja. A szomatikus sejtgenetika szempontjából különösen egyes Dipteráknak van jelentőségük (pl. *Drosophila melanogaster*), mivel emlősökkel szemben nagy előnyük az alacsony kromoszómaszám, a kromoszómák egymástól való jó morfológiai megkülönböztethetősége, valamint a kromoszomális markerek nagy választéka. Ennek tudható be, hogy ma már több rovarsejtvonal létezik (4, 5, 8, 9). In vitro körülmények között Dipterák embrionális szöveteinek van a legnagyobb növekedési potenciálja, azért a legtöbb sejtvonal ilyen eredetű (1).

In vitro szövetkultúrák citogenetikai vizsgálata mindinkább előtérbe kerül, és ez felveti a kromoszomális markerrel rendelkező sejtvonalak előállításának szükségességét.

Ebből a megfontolásból kiindulva az Y transzlokációt tartalmazó T (Y;2) C/cn³ mutánsból kíséreltünk meg sejtkultúra előállítását.

Anyag és módszer

A T (Y;2) C/cn³ (cn)cn ♀, cn/+ ♂, X— sugárzás indukálta törés ♂-nél a II. kromoszóma jobb karjában, 41 A 1 -től balra, valamint az Y kromoszómában / *Drosophila melanogaster* mutáns 12—14^h embriói szolgáltak az elsődleges kultúra kiindulásául, az embriók 25° ± 0,5 °C-on voltak. A fiatalabb embriókból készült sejtkultúrákban a sejtek sérülékenyek, idősebb korban pedig nagy szövetfragmentumok képződnek, melyek nem tapadnak a tenyészedény aljára, ami a további növekedés előfeltétele.

A peték többszöri 1%-os NaCl-al való mosás után 10'-re 2,5% Na ClO-ba kerültek, mely a sterilizálás és a chorion eltávolítása miatt szükséges. Az így kezelt embriókat azután D 225 tápoldatban (4), kónikus homogenizátorban szétőröztük, mely 20% nem inaktivált főtális borjúsérumot tartalmazott. A további munkához szükséges sejtszuszpenziók a homogenizátor aljára leülepednek, míg a sérült sejtek a folyadékban maradnak.

Az elsődleges kultúrákat Vago és Flandre (11) által leírt edényben (melynek térfogata 7 ml) tenyésztettük 0,3 ml tápoldatban.

A táptalajt hetente cseréltük, ezáltal a nagyobb sejtaggregátumokat, melyek nem tapadtak az edény aljára, eltávolítottuk.

A szubkulturákat T-30 tenyésztedényben tenyésztettük, ill. a kromoszomális vizsgálathoz Leighton-edényt használtunk. A szubkultiválás 7 naponként történt, eddig 43 alkalommal. A fedőlemezen levő sejteket hipotoniás, 1,0%-os Na-citráttal kezeltük 20'-ig, majd fixáltuk 10'-ig metanol-jégetet (3 : 1) elegyében és levegőn szárítottuk, ezt követően ecetsavas orceinnel festettük, és euparallal vagy kanadabalzssammal fedtük le.

Eredmények, megvitatás

Az elsődleges kultúrákban az első héten sejtosztódást lehetett megfigyelni, majd ezt hosszú nyugalmi periódus követte. Ekkor csak egyes szövetszövetdarabok ritmikusan összehúzódását látni. 3 hónappal az elsődleges kultúrák előállítását után a sejtaggregátumból élénk sejtosztódás eredményeként kis kerek sejtek nőttek ki, melyek szétszóródtak és rövidesen betöltötték a tenyésztedényt.

A sejtek alak tekintetében egységesek, sejtméret tekintetében azonban heterogének (1. ábra), amiből a sejtek eltérő kromoszómaszámára lehet következtetni. A sejtek a tenyésztedény aljára tapadnak. Azt nem lehet megállapítani, hogy a sejtek milyen embrionális szövetből származnak, ellentétben pl. az idegsejthez hasonló sejtekkel vagy izom sejtekkel, amelyeknél már az elsődleges kultúrában valószínűsíteni lehet eredetüket (10).

A citológiai vizsgálatok szerint a sejtek kromoszómaszáma eltérő az IH_1 -nek elnevezett sejtvonalban.

Az uralkodó sejttípus octoploid, de tetraploid sejtektől egészen 16 n kromoszómaszámgig változik a sejtek kromoszóma garnitúrája (2. és 3. ábra).

Az ábrákon megfigyelhető, hogy az Y kromoszóma mint centrikus fragment jelentkezik. Annak eldöntésére, hogy az Y kromoszóma hiányzó része valóban a II. autoszómán helyezkedik-e el, további vizsgálatok szükségesek. Az Y kromoszómás transzlokációt mutató különböző mutánsokból ez ideig csak elsődleges in vitro kultúrákat készítették (7). Ugyancsak in vitro tenyésztett sejtvonalban Dolfini (2) írt le nem meghatározott eredetű kromoszóma fragmentet.

A pontszerű IV. kromoszóma változó számban fordul elő, a különböző ploidiaszintű sejteknél 0–7 között variál.

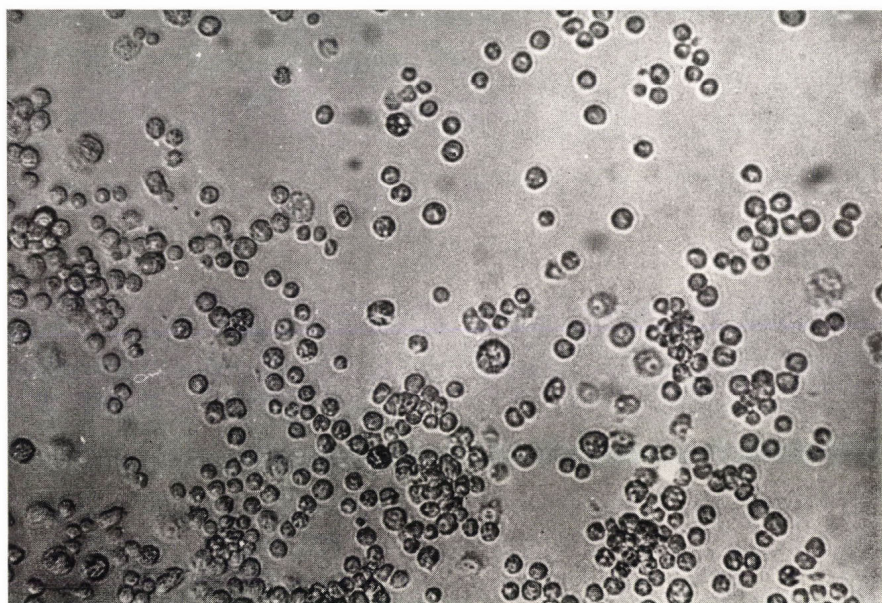
A sejtvonal magas ploidia foka meglepő, mert általában a *Drosophila* sejtvonalak diploidok (2,9) és a kromoszómaszámot tekintve meglehetősen stabilitás figyelhető meg.

A kis %-ban előforduló tetraploid sejteket endomitotikus folyamatok, ritkábban spontán sejtfúzió eredményeként értékelik (2).

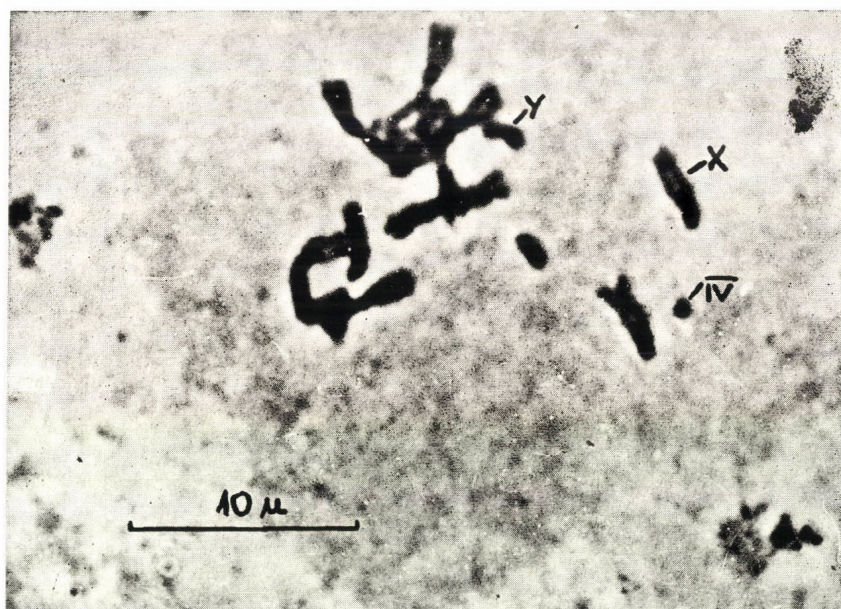
Jelen esetben valószínűleg nem ez az oka a magas ploidiszintnek, mivel az IH_1 sejtvonal különböző ploidiszintű sejteket tartalmaz, tehát pl. többszörös spontán fúziót kellene feltételezni, másrészt a kétmagvú sejtek száma meglehetősen alacsony és a sejtvonal különböző számú kromoszómát tartalmazó sejtjeinek aránya változatlan.

Valószínűbbnek látszik az, hogy az adaptációs periódus alatt lejátszódó folyamatok idézték elő a kromoszóma számban mutatkozó polimorfizmust.

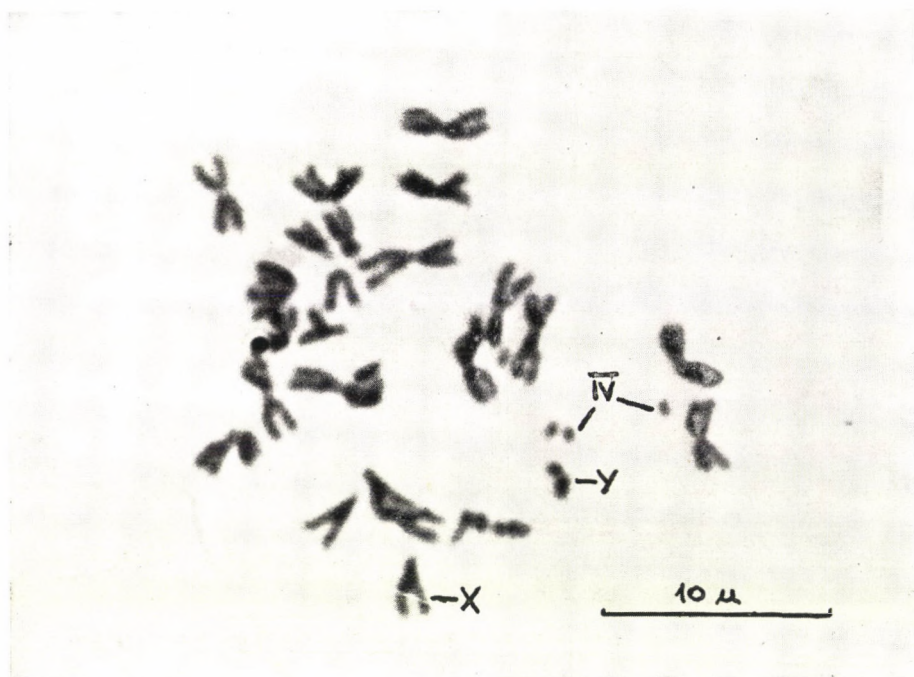
Az adaptációs idő általában meglehetősen hosszú, néhány hónapos (4) esetünkben 3 hónap, és változó időtartamú, amit a táptalaj összetétele befolyásolhat (9).



1. ábra. A T (Y: 2) C/cn³ Drosophila mutáns embriokból származó in vitro tenyésztett sejtek. 280 ×



2. ábra. IH₁ tetraploid sejtek metafázisos kromoszómái



3. ábra. IH₁ octoploid sejtek metafázisos kromoszómái

Az ezalatt lejátszódó folyamatok ismeretlenek, egyesek (11) véleménye szerint:

- a) sejtfelület természetének, organellumok, enzimek megváltozása
- b) legjobban alkalmazkodó sejttypusok elszaporodása
- c) mutáció, melyet a tenyésztés feltételei indukálnak, majd ezt követően a legmegfelelőbb mutáns szelekciója zajlik le.

A táptalaj nem teljesen adekvát volta fontos szerepet játszik a fenti folyamatok kialakításában. A tápoldat rovaroknál még több olyan komponenst tartalmaz (pl. főtápis borjúszerűm), melyeknek szerepe nem ismert. Táptalaj problémák hátráltatták hosszú időn keresztül az állandó sejt kultúrák előállítását, sőt egyes specíesek esetében (Musca) még a közelmúltban is csak 6 hétig fennmaradó sejt kultúráról számoltak be (6).

Az IH_1 sejt vonalnak, mely az első kromoszómális markerrel rendelkező állandó sejt vonal, szerepe lehet sejt fúziós vizsgálatoknál, mely rovarok esetében kidolgozás alatt van (3), mivel pl. fluoroescenciás úton jól nyomon követhető mind az Y centrikus fragment mind pedig annak az autoszómának a sorsa, mely feltehetően az Y kromoszóma translokált részét tartalmazza.

Összefoglalás

A T (Y;2) C/cn³ translokált Y kromoszómát tartalmazó *Drosophila melanogaster* mutánsból in vitro sejt vonalat készítettünk. Az elsődleges kultúrákban 3 hónapos nyugalmi periódus után indult meg a sejt osztódás, mely állandó sejt vonalat eredményezett. A sejtek alakilag egyformák, kerek, méretben azonban heterogének. Ez a méretbeli különbség valószínűleg a különböző ploidiaszinttel van összefüggésben. Az IH_1 sejt vonal ugyanis 4–16 n számú kromoszómát tartalmazó sejtekből áll, a domináló sejt típus octoploid. A sejtek centrikus Y kromoszóma fragmenteket tartalmaznak, a IV. kromoszóma száma sejtenként nagyon változó, 0–7 között variál; jelezve, hogy a IV. kromoszóma jelenléte nem elengedhetetlen feltétele a sejtek in vitro körülmények közötti létezésének.

IRODALOM

1. BROOKS, M. A., KURTTI, T. J. (1971) Insect cell and tissue culture. *Ann. Rev. Entomol.*, **16**, 27–53.
2. DOLFINI, S. (1971) Karyotype polymorphism in a cell population of *Drosophila melanogaster* cultured in vitro. *Chromosoma*, **33**, 196–208.
3. ECHALIER, G. (1972) Személyes közlés.
4. ECHALIER, G., OHANESSIAN, A. (1970) In vitro culture of *Drosophila melanogaster* embryonic cells. *In Vitro*, **6**, 162–172.
5. GRACE, T. D. C. (1966) Establishment of a line of mosquito (*Aedes aegypti* L.) cells grown in vitro. *Nature (London)*, **211**, 366–367.
6. GREENBERG, B., ARCHETTI, I. (1969) In vitro cultivation of *Musca domestica* L. and *Musca sorbens* Wiedemann tissues. *Exp. Cell Res.*, **54**, 284–287.
7. HALFER, C., TIEPOLO L., BARIGOZZI, C., FRACCARO, M. (1969) Timing of DNA replication of translocated Y chromosome sections in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Chromosoma*, **27**, 395–408.
8. КАКПАНОВ, В. Т., ГВОЗДЕВ, В. А., ПЛАТОВА, Т. П., ПОЛУКАРОВА, Л. Г. (1969) In vitro establishment of embryonic cell lines of *Drosophila melanogaster*. *Genetika*, **5**, 67–75.
9. SCHNEIDER, I. (1972) Cell lines derived from late embryonic stages of *Drosophila melanogaster*. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **27**, 353–365.

10. SHIELDS, G., SANG, J. (1970) Characteristics of five cell types appearing during in vitro culture of embryonic material from *Drosophila melanogaster*. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **23**, 53—69.
11. VAGO, C., FLANDRE, P. (1963) Culture prolongée de tissus d'insectes et de vecteurs de maladies en coagulum plasmatique. *Ann. Epiphyties*, **14**, 127—139.
12. WILLMER, E. N. (1965) Morphological problems of cell type shape and identification In: *Cells and tissues in culture*, ed Willmer, E. N. Vol. 1, 143—176.

ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ИЗ ЭМБРИОНА DROSOPHILA КУЛЬТИВИРОВАННОЙ IN VITRO

Э. Паради

Готовили in vitro клеточную линию из мутанта *Drosophila melanogaster* содержащую T(Y; 2)C/cn³ транслокантную Y хромосому. В первичных культурах после трехмесячного периода покоя начинается деление клеток, в результате которого получается постоянная клеточная линия. Клетки по форме одинаковые, круглые но гетерогенные по своим размерам. Эта разница, вероятно, связана с разными уровнями пloidии. IH₁ клеточная линия составлена из клеток, содержащих 4—16 n хромосомы, где доминирующий тип клеток октоплоид. Клетки содержат фрагменты центральных Y хромосом, а хромосомы типа IV, по количеству клеток очень изменчивы, варьирует от 0 до 7; что указывает на то, что наличие хромосомы типа IV, не является обязательным в условиях in vitro.

ESTABLISHMENT OF IN VITRO CULTIVATED CELL LINE OF DROSOPHILA EMBRYO

E. Parádi

In vitro cell line was made from *Drosophila melanogaster* T(Y: 2) C/cn³ mutant, consisting the translocation of the Y chromosome. The cell division began in the primary cultures after 3 months resting period and resulted in a fixed cell line. The cells are morphologically similar, round, but heterogeneous in size. This difference in size is connected probably with the different ploidia levels. Namely, the IH₁ cell line is built from cells consisting of 4—16 n number of chromosomes, whereas the dominant cell type is octoploid. The cells contain centric Y chromosome fragments; the number of the IV. chromosome is very variable from cell to cell, it varies from 0 to 7. This shows, that the presence of the IV. chromosome is not an indispensable condition for the existence of cells under in vitro circumstances.

2,4-D HATÁSA A BURGONYASZÖVETTENYÉSZETEK IZOTÓP-SZULFÁT INKORPORÁCIÓJÁRA

KOVÁCS, E. I., BOTHÁR, A. DÓZSA-FARKAS, K. és FALUDI, B.

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Származás- és Örökléstani Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1972. december 12-én

A kén eszenciális komponens több fontos vegyület felépítésében (pl. kéntartalmú aminosavak, fehérjék, biotin, thiamin stb.). Ezért a kén nélkülözhetetlen a szövettenyészetek normális növekedéséhez és befolyásolja az in vitro szövetek, szervek (pl. gyökerek) morfogenezisét (STREET, 1969).

A korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy a burgonyaszövettenyészetek növekedését a 2,4-diklórfenoxiecetsavval együtt adott glutathion szinergisztikusan befolyásolja (FALUDI, 1956).

Ezt későbbi vizsgálataink is igazolták (nem publikált). MARRÉ és ARRIGONI (1957) kísérleteikben azt tapasztalták, hogy a glutathion az indolecetsav és 2,4-diklórfenoxiecetsav (2,4-D) jelenlétében serkenti a szövettenyészetek növekedését, de a glutathion egymagában nem. Oxidált glutathion gátolta, redukált glutathion serkentette az Avena coleoptilok növekedését. MARRÉ és ARRIGONI szerint az auxinok befolyásolják az oxidált és redukált glutathion arányát, melyet a növekedési folyamatok megváltozása követ.

A szövetek növekedése elválaszthatatlan a nagy molsúlyú kéntartalmú vegyületek, a fehérjék szintézisétől. Így a szövettenyészetek kénformáinak megismerése 2,4-D kezelt szövetekben fontos információkat szolgáltathat a szöveti növekedés mechanizmusára. Vizsgálatainkban a 2,4-D hatását vizsgáltuk a burgonya szövettenyészetek kénformáinak változására.

Anyagok és módszerek

Kísérleteinket a *Solanum tuberosum* „Gülbaba” fajtájával végeztük. A sterilizált gumók belső húsból 5×5 mm nagyságú kb. 25—26 mg súlyú szeleteket vágtunk ki, és steril White-féle táptalajra helyeztük (FALUDI et al. 1959). A táptalaj az ásványi anyagokon kívül tartalmazott 0,1 mg/l aneurint, 0,5 mg/l piridoxint, 0,5 mg/l nikotinsavat, 2 mg/l glicint, 75 mg/l kazeinhidrolizátumot, 2% szaharózt, és 1% agart; valamint $2 \mu\text{Ci/ml}$ hordozómentes $\text{H}_2^{35}\text{SO}_4$ -et. A 2,4-D-t 10^{-3} — 10^{-7} M koncentráció tartományban alkalmaztuk. A szövetek 26°C -on, sötétben növekedtek 5, 10 és 15 napig. A szövetdarabkákat feldolgozás előtt inaktív tápoldattal öblítettük, hogy eltávolítsuk a radioaktív agaros táptalaj maradékot (az inaktív oldat összetétele megegyezett a táptalaj összetételével, csak agar hiányzott belőle).

Az össz-kén meghatározást salétromsavas roncsolás után végeztük. Az észter kötésben levő szulfátot sósavas hidrolízissel szabadítottuk fel. Mértük az összes kén, az összes szervetlen kén, és a szerves kötésben levő kén radioaktivitását. (BÁLINT és HEGEDÜS, 1955.)

A kapott adatokat statisztikailag értékeltük, és a szignifikancia mértékét a táblázatban megadtuk.

A mintákból 0,1 ml mennyiséget alumínium tálkára cseppentettük és Végablakos GM-csővel (1,3 mg/cm²) mértük a radioaktivitást. Az eredmények értékelésekor a háttér effektust, bomlási időt, geometriai faktort, a minták önabszorpcióját, a mérési határfokát korrekcióba vettük. A kísérleti eredmények adatait négy kísérletsorozat három paralel méréséből számítottuk.

Kísérleti eredmények

Az ötnapos szövettenyészetek ³⁵S inkorporációját az 1. táblázat szemlélteti. Látható, hogy a 2,4-D nélküli táptalajon nevelt, kontroll szövetek tartalmazzák a legnagyobb mennyiségű össz-jelzett ként. A 2,4-D kezelés hatására csökken, a kéntartalom különösen a 10⁻³M koncentráció esetén. Érdekes, hogy a kontroll mellett a legmagasabb aktivitást a 10⁻⁵M 2,4-D-s kezelés mutatta. Bár 10⁻⁵ M 2,4-D jelenlétében van a kezelt szövetekben a maximális ³⁵S beépítés, mégis a maximális növekedés a 10⁻⁴M koncentrációnál történik. (Vö. KOVÁCS, FALUDI, FODOR 1964–1965.) A szervetlen kéntartalom ³⁵S szintén 10⁻⁵ M 2,4-D koncentráció jelenlétében maximális és 10⁻³ M-nál

1. táblázat

Különböző 2,4-D koncentrációk hatása a ³⁵ SO₄-beépülésére, a burgonya szövettenyészetek kénformáiba

A tenyészetek kora	A kén formái	³⁵ S cpm/mg szárazanyag				
		kezeletlen	2,4-D kezelés			
			10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M	10 ⁻³ M
5nap	Összes S	372,2**	297,2	364,5**	245,3	157,0
	Szervetlen S	59,4	71,5	81,1	41,4	16,6
	Szerves S	312,8***	225,7	283,4***	203,9	140,4
	Szervetlen	0,18	0,31*	0,28*	0,20	0,11
	Szerves					
10 nap	Összes S	605,4	1046,0	1657,0	1418,0	368,5
	Szervetlen S	263,3	314,9	369,7**	383,6**	125,0
	Szerves S	342,0	731,3	1287,0	1034,7	243,3
	Szervetlen	0,76	0,43	0,28*	0,37	0,51
	Szerves					
15 nap	Összes S	319,7	385, 3	1068,2	785,7	495,2
	Szervetlen S	154,1	142,5	380,9**	370,9**	200,7
	Szerves S	167,9	242,7	686,8	414,9	294,3
	Szervetlen	0,92	0,58	0,55	0,91	0,68
	Szerves					

* }
 ** } nem szignifikáns különbségek 5%-os szinten.
 *** }

minimálisra csökken. A szerves kén tartalom hasonló tendenciát mutat. A szervesetlen és szerves kén aránya 10^{-7} és 10^{-5} M 2,4-D koncentráció jelenlétében maximális értéket mutat. Az értékek elég alacsonyak, ami arra mutat, hogy az első öt nap folyamán igen intenzív a kén szerves kötésbe való beépülése.

A 10 napos szövetek esetében az össz-kéntartalom általában nagyobb emelkedést mutat (1. táblázat). A maximális kén beépülés szintén 10^{-5} M 2,4-D koncentráció jelenlétében tapasztalható, a kontroll értékéhez viszonyítva 274%-os emelkedés. Maximális szervesetlen kén tartalom az optimális növekedést serkentő 10^{-4} M 2,4-D koncentráció jelenlétében mutatkozott. A 10^{-3} M 2,4-D esetében a szervesetlen kén tartalom minimális. A szerves kötésben található ^{35}S mennyisége a 10^{-5} M 2,4-D jelenlétében maximális, az ötnapos értékhez viszonyítva majdnem négyszeres. A növekedésre optimális 10^{-4} M 2,4-D hatására a szervesetlen kén mennyisége a 10^{-5} M 2,4-D esetén tapasztalt értéknél kb. 20%-kal alacsonyabb beépülést mutatott, de ez is elég magas! A 10^{-3} M 2,4-D hatására a szerves kén mennyisége itt is a legalacsonyabb, bár az ötnapos tenyészeteknél kb. 70%-kal magasabb (1. táblázat).

A szervesetlen/szerves kén aránya az öt napos értékekhez viszonyítva különböző mértékű emelkedést mutatott, kivéve a 10^{-5} M 2,4-D koncentrációt.

A 15 napos szövettenyészetek össz-kén, szervesetlen, szerves kén tartalma a 10 napos kultúrákhoz viszonyítva csökken, kivéve a 10^{-3} M 2,4-D kezelést (1. táblázat). A jelölt össz-kén mennyisége 15 napos korban is a 10^{-5} M 2,4-D koncentráció jelenlétében növekvő szövetekben a legmagasabb. Azonban érdekes, hogy a kontrollnál 10^{-3} M 2,4-D kezelés hatására 55%-kal magasabb az össz-kéntartalom. A szervesetlen kén esetében hasonló a helyzet. Maximális ^{35}S inkorporációt a 10^{-5} , ill. 10^{-4} M 2,4-D kezelésnél kaptunk, de a két érték között nincs szignifikáns különbség. 10^{-3} M 2,4-D hatására a kontroll értéknél 30%-kal magasabb az inkorporáció mértéke. A szerves kötésben levő kén mennyisége a 10^{-5} M 2,4-D esetén a legmagasabb. A növekedést gátló 2,4-D koncentráció hatására 76%-kal több ^{35}S épül szerves kötésbe, mint a kezeletlen kultúrákban (1. táblázat). A szervesetlen/szerves kén arány az öt- és tíznapos szövetekhez viszonyítva emelkedik. Az arányszámok 10^{-5} M 2,4-D esetén mutatnak minimumot és a kezeletlen, valamint a 10^{-4} M 2,4-D kezelés esetében érik el maximális értéküket.

Feltűnő, hogy a 10 és 15 napos szövetekben a 10^{-5} M és 10^{-4} M-os 2,4-D koncentráció jelenlétében a szervesetlen kén szinte változatlan. Így az össz-kéntartalom változása a szerves kén mennyiségnek módosulásával függ össze (1. tábl.).

Megvitatás

Vizsgálataink alapján megállapítható, hogy a 2,4-D a koncentrációtól függően jelentősen befolyásolja a ^{35}S beépülését az izolált burgonya szövetekbe. 10 és 15 napos szövetekben a 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-4} M 2,4-D jelenlétében növekszik a kontrollhoz viszonyítva a kén tartalom és 10^{-3} M 2,4-D jelenlétében minimumra csökken.

A maximális izotóp kén beépülés minden esetben 10^{-5} M 2,4-D jelenlétében történik. Megjegyzendő, hogy a szövettenyészetek maximális növekedése 10^{-4} M 2,4-D koncentrációnál tapasztalható (FALUDI et al. 1959,

Kovács et al. 1964—65). A kísérletekből világosan láthatjuk, hogy a ^{35}S inkorporációjának és a szöveti növekedésnek eltérő optimális 2,4-D koncentráció felel meg. Míg a szöveti növekedés 10^{-4}M 2,4-D koncentrációnál maximális, addig a ^{35}S inkorporáció 10^{-5}M 2,4-D jelenlétében mutat maximumot.

Mivel a 10 és 15 napos szövetek szövetlen kén mennyisége igen kis változást mutat, arra következtethetünk, hogy a lényeges változások a *szerves kén* vegyületekben történtek. A szövetlen kén alacsony szintje azzal magyarázható, hogy a 2,4-D a sejt membránok permeabilitását növeli (VELDSTRA és BOOIL 1949, FALUDI et al. 1955), aminek következtében a kis molsúlyú kénvegyületek nem halmozódhatnak fel a szövetekben. Így a szövetekben csak a nagy molekulásúlyú szerves vegyületekben akumulálódhat a radioaktivitás. Ezek a nagy molekulásúlyú kén tartalmú vegyületek a fehérjék, melyek nem jutottak ki a sejtekből.

A kísérletek azt mutatják, hogy a ^{35}S inkorporációja szerves kötésbe (pl. fehérjékbe) 5 és 10 nap között emelkedik, míg 10 és 15 nap között csökken. Ez az öregedő szövetek magasabb proteolitikus aktivitásával magyarázható (RICHMOND és LANG 1957, OSBORNE 1964). Ez azt is bizonyítja, hogy a sejtben maradó szerves kén zöme fehérjében található. A kezelt szövetekhez viszonyítva a 2,4-D fiziológias koncentrációi (10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-4}M) serkentik a jelzett kén nagy molsúlyú szerves vegyületekbe (így a fehérjékbe) való beépülését. A 10^{-3}M 2,4-D koncentráció viszont lassítja a beépülést a fehérjékbe. Az 1. táblázat azt bizonyítja, hogy a 10^{-3}M 2,4-D jelenlétében nem gátolódik teljesen a ^{35}S beépülés a nagy molsúlyú szerves anyagokba (fehérjékbe), hanem 5 és 15 nap között fokozatosan emelkedik a fehérjék radioaktivitása. Tehát 10^{-3}M 2,4-D jelenlétében még folyhat (bár lassabban) a fehérjeszintézis. (A kis molsúlyú anyagok 10^{-3}M 2,4-D jelenlétében a fokozódó membránkárosodás miatt kijutnak a sejtől és így a szerves kén radioaktivitásának emelkedése a nagy molsúlyú szerves anyagok, vagyis a szerkezeti és nem szerkezeti fehérjék szintézisét tükrözi.)

Összefoglalás

A 2,4-diklórfenoxiecetsav (2,4-D) hatását vizsgáltuk a *Solanum tuberosum* „Gülbaba” burgonya fajta gumó szövettenyészetek kénformáinak változására. A 2,4-D kezelés 10^{-7} és 10^{-3}M koncentráció tartományban történt. Az 5, 10 és 15 napos szövettenyészetekben általában 10^{-5}M 2,4-D koncentráció jelenlétében maximális a $^{35}\text{SO}_4$ inkorporáció, míg a maximális növekedés 10^{-4}M koncentrációnál tapasztalható. Ez az össz-kén, szövetlen kén és szerves kén radioaktivitására is jellemző. A toxikus 10^{-3}M 2,4-D koncentráció esetén a membránok károsodása miatt a kis molsúlyú vegyületek könnyen kijutnak a sejtekből, míg a nagy molsúlyú fehérjék a sejtben maradnak (vagy strukturálisan kötöttek) és így a szerves kén radioaktivitása főleg a fehérjék szintézisének mértékét tükrözi. A toxikus 10^{-3}M 2,4-D esetén is folyik a fehérjeszintézis.

IRODALOM

1. BÁLINT, P. és HEGEDÜS, A. (1955): Klinikai laboratóriumi diagnosztika. Művelt Nép TIT Kiadó Budapest.
2. FALUDI, B. (1956): Die Wirkung 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure und Glutathion auf das Wachstum der Gewebekulturen vor Kartoffeln. *Naturwiss.*, **43**, 280.
3. FALUDI, B., F. DÁNIEL, Á., KOVÁCS, E. és BÁLINT, A.-NÉ (1959): Adatok a 2,4-diklórfenoxi-ecetsav növényi foszforanyagcserére gyakorolt hatásával kapcsolatban. *Biol. Köz.*, **7**, 7—20.
4. KOVÁCS, E., FALUDI, B. és FODOR, A. (1964—1965): Szöveti növekedés befolyásolása 2,4-D és klorogénsav egyidejű alkalmazásával. *Biol. Köz.*, **12**, 95—101.
5. MARRÉ, E. and ARRIGONI, O. (1957): I. The effects of auxin on glutathione and the effects of glutathione on growth of isolated plant parts. *Physiol. Plant.*, **10**, 289—301.
6. OSBORNE, D. J. (1964): Effect of kinetin on protein and nucleic acid metabolism in *Xanthium* leaves during senescence. *Plant Physiol.*, **37**, 595—602.
7. RICHMOND, A. E. and LANG, A. (1957): Effect of kinetin on protein content and survival of detached *Xanthium* leaves. *Science*, **125**, 650—651.
8. STREET, H. E. (1969): Growth in organized and unorganized systems. In: F. C. STEWARD (ed): *Plant Physiology* Vol. 5 B, 3—224. Acad Press, New York, London.
9. VELDSTRA, H. and BOOIJ, H. L. (1949): Researches on plant growth regulators. XVII. Structure and activity. On the mechanism of Action III. *Biochim. Biophys. Acta*, **3**, 278—312.

ДЕЙСТВИЕ 2,4-D НА ИНКОРПОРАЦИЮ ИЗОТОПНЫХ СУЛЬФАТОВ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕГО КАРТОФЕЛЯ

Ковач, Э. И., Ботар, А., К. Дózsa-Фаркаш и Б. Фалуди

Исследовали действие 2,4-дихлорфеноксид уксусной кислоты (2,4-D) на виды формации серы в тканевой культуре клубней картофеля подвиды *Solanum tuberosum*. 2,4-D была использована в концентрации от 10^{-7} до 10^{-3} М.

Максимальная инкорпорация $S^{35}O_4$ на 5, 10 и 15[день наблюдались при концентрации 10^{-5} М, а максимальный рост при концентрации 10^{-4} М. Это характерно и для радиоактивности общей неорганической и органической серы. При токсической 10^{-3} М концентрации соединения низкого молекулярного веса легко выходят из клеток вследствие повреждения мембран, а белка высокого молекулярного веса остаются в ней. (Может быть они структурально связаны.) Так радиоактивность органической серы указывает главным образом на интенсивность синтеза белков. При токсической дозе тоже имеет место синтез белков.

THE EFFECT OF 2,4-D ON THE ISOTOPE SULPHATE INCORPORATION OF THE POTATTO TISSUE CULTURES

E. I. Kovács, A. Bothár, K. Dózsa-Farkas and B. Faludi

The effect of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) on alterations of sulphuric forms in tuber tissue cultures of "Gülbaba" potato, *Solanum tuberosum* was studied. 2,4-D treatment was performed by 10^{-7} to 10^{-3} M concentrations. In the 5, 10, and 15 days old tissue cultures the $^{35}SO_4$ incorporation is maximal by 10^{-5} M 2,4-D concentration, whereas the maximal growth is found by 10^{-4} M concentration. This is characteristic to the radioactivity of the total sulphur, anorganic and organic sulphur, too. In case of the toxic 10^{-3} M 2,4-D concentration the compounds of low molecular weight get out of the cells easily, because of the derangement of the membranes. The proteins of high molecular weight remain (or bound structurally) inside the cell: so the radioactivity of the organic sulphur shows mainly the measure of protein synthesis. In case of the toxic 10^{-3} M 2,4-D concentration the protein synthesis proceeds, too.

ADATOK A TAVIKAGYLÓ (ANODONTA CYGNEA L.) KÖZPONTI IDEGRENDSZERÉNEK REGENERÁCIÓJÁHOZ

MARKÓ IMRÉNÉ és BARANYI ILONA

SOTE Gyógyszertani Intézet és Eötvös Loránd Tudományegyetem
Általános Állattani Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1973. február 12-én

A gerinctelen állatok idegrendszeri regeneráló képességének kutatásában már régóta központi fontosságú probléma: *a)* a regenerátum sejtanyagának eredete, *b)* a regenerátum differenciálódásának okai és törvényszerűségei. Az elmúlt évtized során jelentős eredmények születtek a fenti problémákkal kapcsolatban. Az örvényférgekben kimutatták (Wolff és Lender 1950, Lender 1956a, 1956b, Török 1959), hogy az agydúc olyan anyagot termel (az ún. organizint), mely indukálja az eltávolított szem újrakejlődését. Továbbiakban Petrov és Belova (1968) kimutatták, hogy a részlegesen eltávolított idegrendszer regenerálódott a férgek több csoportjában. Az idegsejtek megtartották osztódási képességüket az ontogenezis folyamán.

A Molluscák azon állatok csoportját képviselik, melyek idegrendszerének regenerációs képességét kevésbé tanulmányozták. Jelen vizsgálatok célja az volt, hogy milyen reakciót vált ki az *Anodonta cygnea* L. bal oldali pedális ganglionjának részleges eltávolítása az állatok általános magatartásában, továbbá az idegrendszer eltávolított részének a pótlása, ill. a regenerációja hogyan történik meg.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat a ráckevei Duna-ágból begyűjtött *Anodonta cygnea* L. 5—6 évgyűrűs példányain végeztük. Összesen 170 db állatot dolgoztunk fel. Begyűjtés után az állatokat 0,1%-os kálium permanganáttal fertőtlenítettük és akváriumba helyeztük, melynek hőmérséklete és oxigénellátottsága megfelelt az állatok természetes körülményeinek. Operáció előtt az állatokat 23—24 C°-os vízben narkotizáltuk, melynek hatására az állatok a lábizmaikat kinyújtották a testüket borító mészteknőből, ekkor a pedális ganglionjából a bal oldali ganglionnak felét eltávolítottuk éles olló és szike segítségével. Az operációt követően a 2., 4., 6., 7., 8., 9., 10., 11., 13., 15., 17., 19., 20., 22., 24., 26., 30., 33., 34., 36., 40., 46., 50., 58-ik napokon az állatokból kioperáltuk a pedális gangliont a környező szövettel együtt, melyet részben 4%-os formolba, részben Carnoy-féle fixálóban rögzítettünk. Paraffin beágyazás után 5 μ -os sorozatmetszeteket készítettünk. Az anyagot May-Grünwald Giemsa-val, Mallory-val, methylzöld-pironinnal festettük meg. Kísérleteinkben

a legszembetűnőbb eredményeket az operáció utáni 4., 11., 17., 30. és 58-ik napokon kaptuk, így eredményeink leírásában ezeket az adatokat értékeljük.

Eredmények

1. Az állatok operáció utáni magatartásának megfigyelése

Operáció után az állatok teljes mozdulatlansági állapotba kerültek, érintésre sem reagáltak, és lábaikat sem rejtették el a teknők közé. Az operációt követően a 7–8. napon az állatoknak kezdett helyreállni a természetes funkciója, érintésre reagáltak, de a lábukat még a teknők közé sem húzták be. Majd a 17–18. napon az állatok visszanyerték természetes funkciójukat, érintésre erősen reagáltak, jól mozogtak, elrejtőzködtek az aljzaton levő homokban.

2. Szöveti eredmények

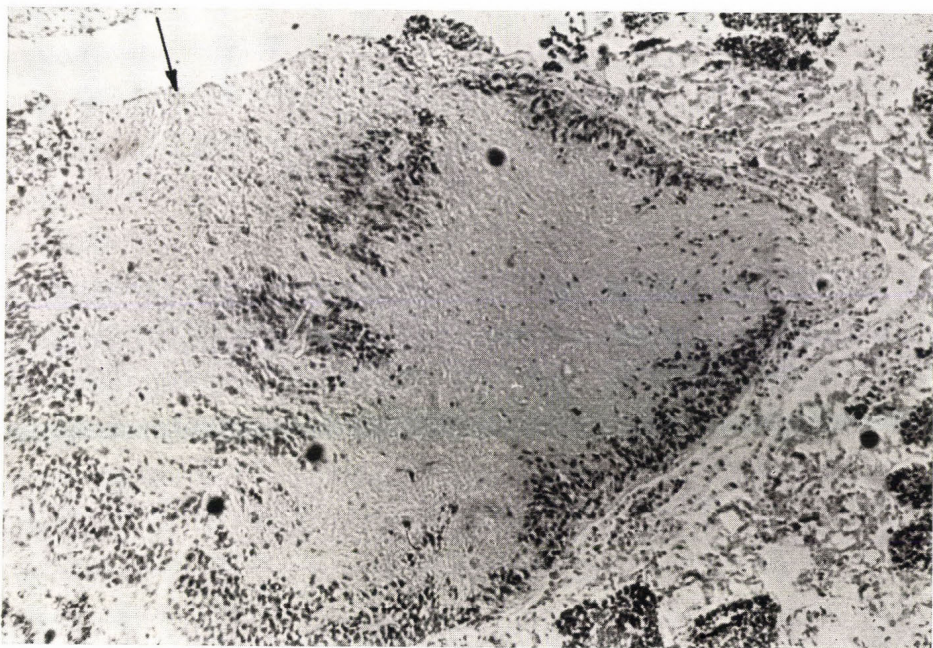
Az operációt követően a 4-ik napon a pedális ganglion sebzéses felszínén degenerációs sejtek voltak megfigyelhetők (1. kép). Az idegsejtek citoplazmája megduzzadt, vakuolizálódott. A sejtmag kromatinállománya igen kevés, a magon belül a magvacska perifériás elhelyezkedésű (2. kép). A ganglion sebzési felszínén számos gliasejt figyelhető meg, jóval több, mint a sebzéstől mélyebben fekvő ganglionrészetben volt látható.

A 11-ik napon az operáció után a sebzés felszínén a gliasejtek tömegesen jelennek meg, köztük olyan gliasejtek is vannak (3. kép), amelyeknek 2 magja van. Az idegsejtek citoplazmája finom szemcsézettségű pironinofiliát mutatott. A sejtmag megnyúlt és a kromatin állománya gazdagabb mint az operáció után a 4. napon volt észlelhető (4. kép).

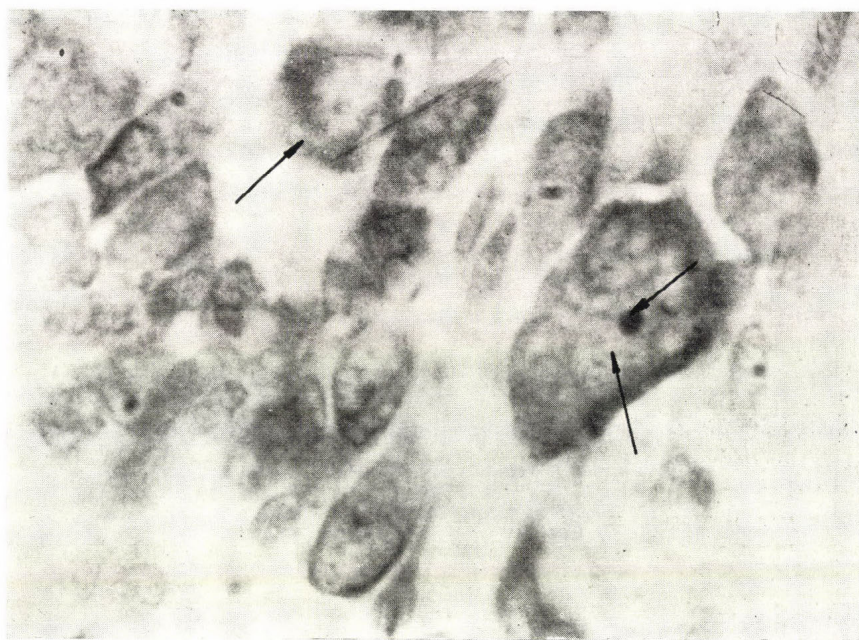
A 17-ik napon a regenerációt követően a ganglion sebzési felszínén regenerációs bimbó jelenik meg (5. kép). A regenerációs bimbó területén számos nyúlványos sejt látható, ezen sejtek megnyúlt, nagy sejtmaggal rendelkeznek a sejtmagok kromatinállományban igen gazdagok. A sejtek citoplazmája keskeny és a sejtmagot teljesen körülöleli. Ezen nyúlványos sejtek között megfigyelhetők olyan alakok is, melyeknek a magja kettéfűződik, amitózisnak megfelelő osztódás szerint (6. kép). Ezek a nyúlványos sejtek az irodalmi adatok szerint (5) neoblasztoknak felelnek meg. A regenerációs bimbóban megfigyelhetők olyan idegsejtek is, amelyekben két sejtmag van. Ezen sejtek magjában a kromatin állománya igen felszaporodott. A citoplazmájuk hártáján a két sejtmag közötti területen befűződések láthatók (7. kép).

Az operáció után a 30. napra az eltávolított ganglionrészt helyén a ganglion sejtes kéregállománya kiegészült, vagyis regenerálódott (8. kép). Az idegsejtek normális méretűek, citoplazmájuk RNS-ben gazdag. A citoplazmából vakuolumok eltűntek, a sejtmag a DNS-ben gazdag, magban a magvacska centrális elhelyezkedésű. A kéregállományt körülvevő kötőszöveti tok követi a kiegészült sejtes kéregállományt, de még azt nem nőtte teljesen körül (9. kép).

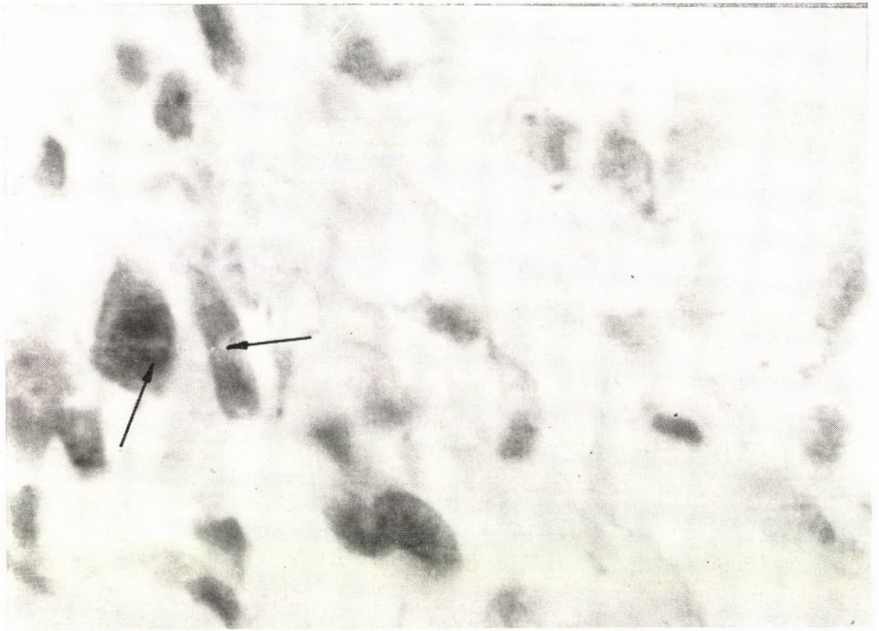
Az 58-ik napon az operáció után a ganglion sejtes kéregállománya teljesen regenerálódik, a kötőszöveti tok is azt teljesen körülnövi (10. kép). Ezen ganglion kéregállományának felépítése megegyezik a kontroll állatok megfelelő ganglionjának sejtes kéregállományával.



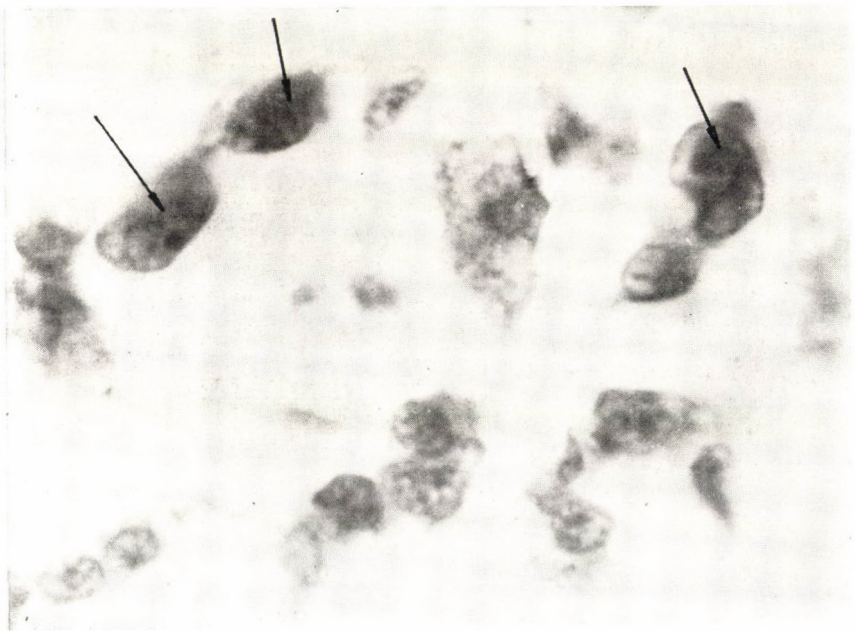
1. kép. A pedális ganglion sebzett felszíne az operáció után a 4. napon. Km. festés Mp. $\times 40$



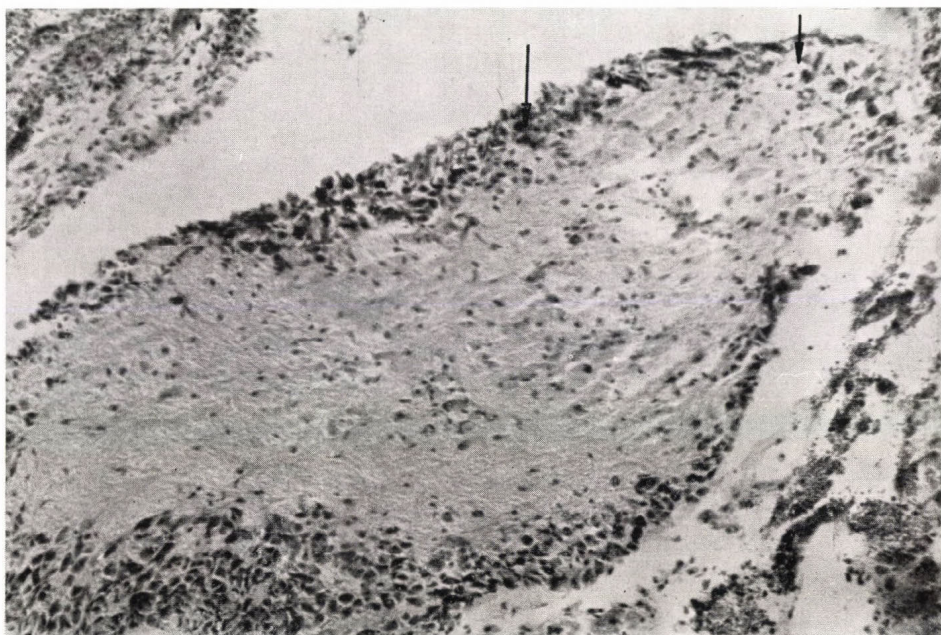
2. kép. Részlet az 1. sz. képből. $\times 1000$



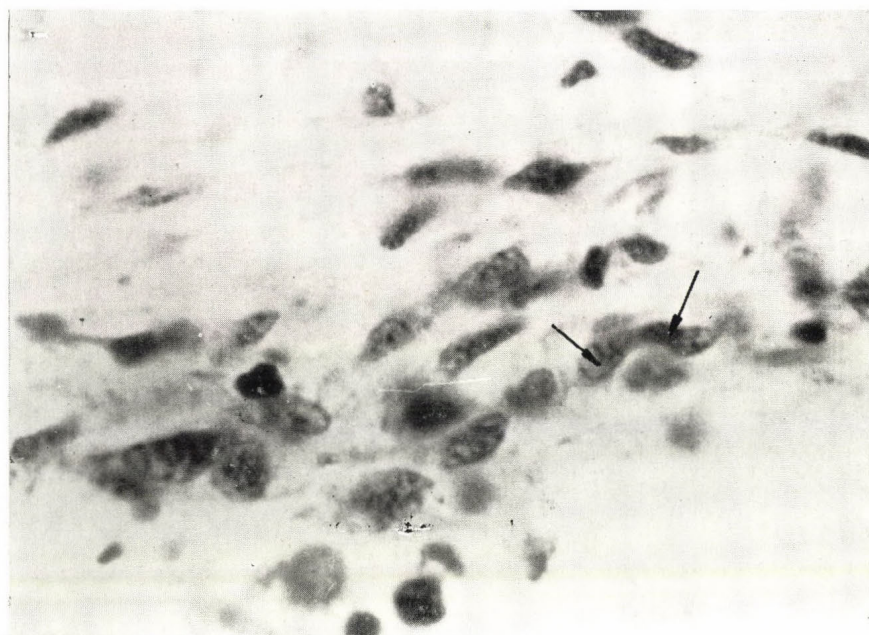
3. kép. Pedális ganglion sebzett felszíne az operáció után 11. napon.
Gliasejtek csoportja. Festés Mp. $\times 1000$. Km.



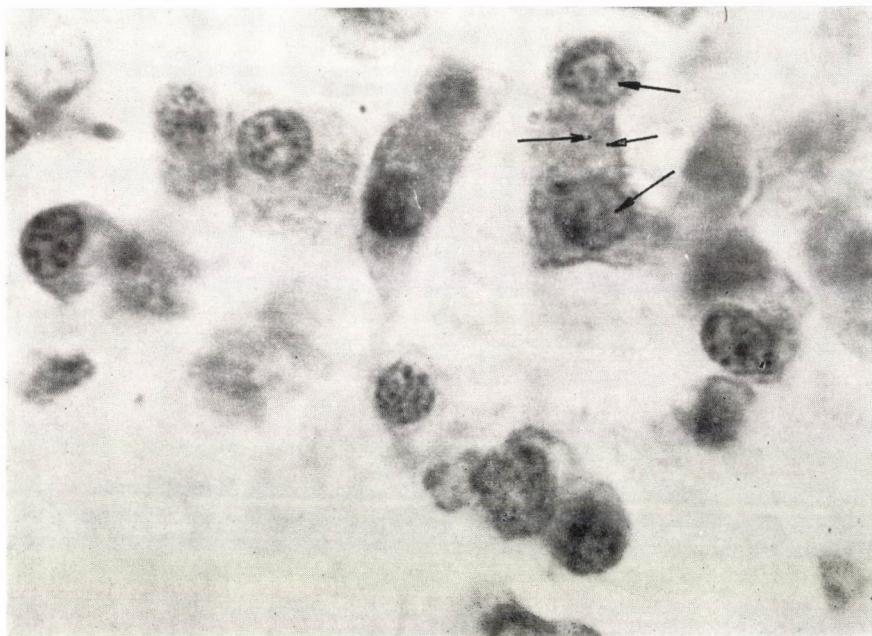
4. kép. Pedális ganglion sebzett felszíne az operáció után 11. napon.
Az idegsejtek csoportja. Festés Mp. $\times 1000$. Km.



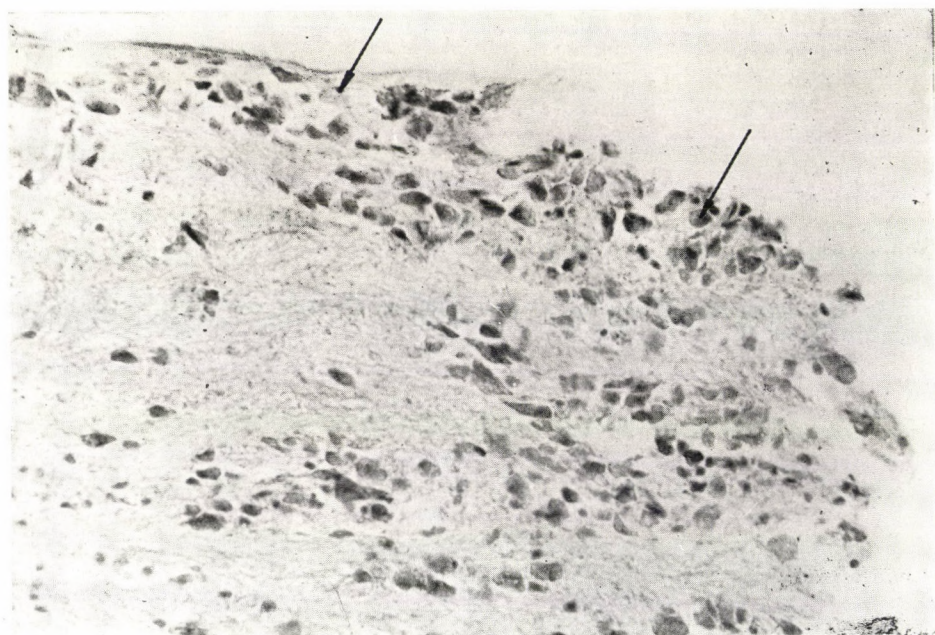
5. kép. A pedális ganglion sebzett felszíne az operáció után 17. napon.
A regenerációs bimbó látható. Festés Mp. $\times 40$. Km.



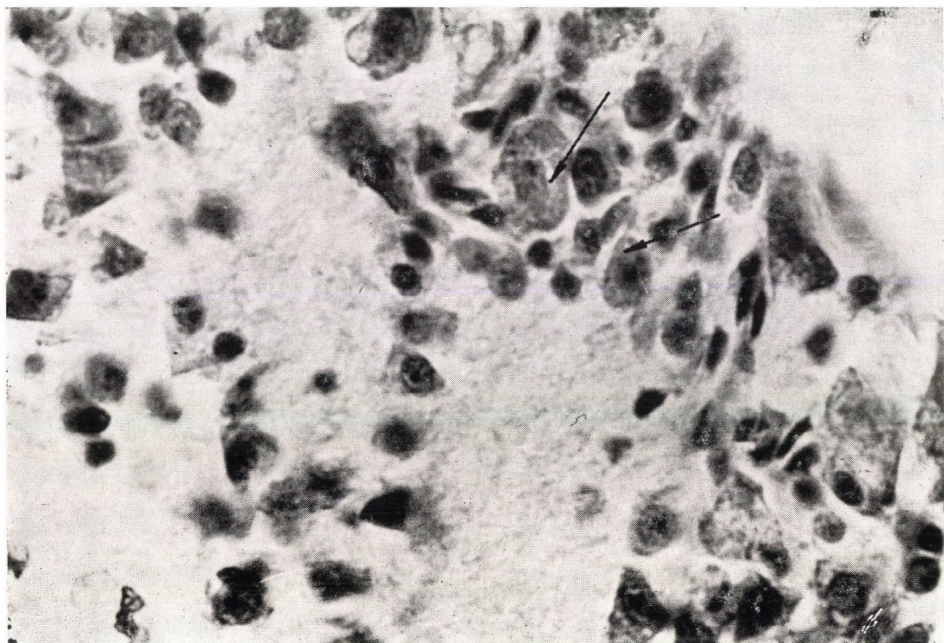
6. kép. Részlet az 5. sz. képből. $\times 1000$. Km.



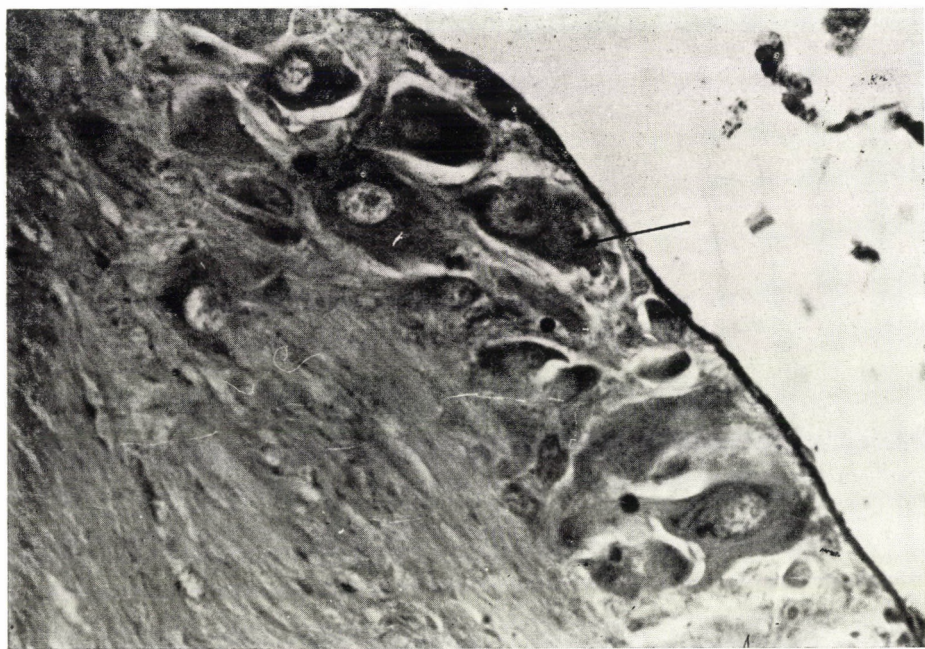
7. kép. A pedális ganglion sebzett felszíne az operáció utáni 17. napon.
Erős pironinofiliát mutató idegsejtek. Festés Mp. $\times 1000$. Km.



8. kép. A pedális ganglion sebzett felszíne az operáció utáni 30. napon.
Festés Mp. $\times 40$. Km.



9. kép. Részlet a 8. sz. képből. $\times 1000$. Km.



10. kép. A pedális ganglion sebzett felszíne az operáció utáni 58. napon.
Festés Mp. $\times 1000$. Km.

Megvitatás

A gerinctelen állatok idegrendszerének regenerációjával kapcsolatban az utóbbi évtizedekben végzett kutatások eredményei nyomán új és jelentős elméletek születtek, melyek másként magyarázzák az idegrendszer regenerációjának jelenségeit, mint pl. a Child-féle axiális grádiens teória, vagy a Brondsted-féle időfokozati regenerációs mező elmélet. Lender (1956) vizsgálatainak eredményei ezeket az elméleteket nem erősítették meg. Lender az idegrendszer morfogenetikai szerepét állítja előtérbe a regenerációban. Ezeket az adatokat többen megerősítették, így pl. Török (1959), aki nagy szerepet tulajdonít a férgek (planáriák) agydúcának és a központi idegrendszerhez tartozó agydúc folytatását képező, két fő idegtörzs morfogenetikai aktivitásának a regeneráció, vagyis az eltávolított központi idegrendszer kialakításában. Hasonló adatokat kapott Aros (1962) ugyancsak férgek (Annelida) idegrendszerének regenerációjával kapcsolatban. Különösen nagy jelentőségűek Petrov és Belova (1968) eredményei. Megfigyelték azt, hogy ha a férgek központi idegrendszerét részlegesen eltávolították, a megmaradt idegszövet-részben az idegsejtek osztódni kezdtek, és ennek indukciója révén regenerálódott az idegrendszer. Saját eredményeink a Molluscák (Anodonta) központi idegrendszerének regenerációjával kapcsolatban alátámasztják a fenti adatokat. Megállapítottuk, hogy az Anodonta pedális ganglion bal oldali részének részleges eltávolítása után az operációt követő 11-ik npra az idegsejtek degenerációs jelenségét felváltották a regenerációs jelenségek. Az operáció után a 17-ik napon a ganglion sebzett felszínén megjelent az ún. regenerációs himbó, benne számos osztódásban levő glia és idegsejt volt látható. Majd fokozatosan az idegszövet kiegészült és az 58. npra a regeneráció befejeződött. A ganglion sebzéses felszínén az idegszövet fénymikroszkópos szerkezete meg egyezett a kontroll állatok idegszövetének szerkezetével. Az idegsejtek finomabb szerkezetének vizsgálata folyamatban van.

Összefoglalás

A) Funkcionális jelenségek nyomon követése

1. Az operáció után az állatok retraktor-izomzatának funkcionális zavara volt észlelhető, érintésre egyáltalán nem reagáltak. Az állatoknak a normális helyváltoztató mozgása leállt.
2. Az operáció utáni 7–8-ik napon az állatoknak a retraktor-izom működése kezdett helyreállni, amit bizonyít, hogy érintésre reagáltak, de a lábukat a méasztéknők közé még nem tudták behúzni.
3. A 17–18-ik napon már az állatok normális funkciója helyreállt, a retraktor-izmok jól működtek, ennek következtében az állatok az aljzaton jól mozogtak, érintésre intenzíven reagáltak.

B) Degenerációs és regenerációs jelenségek megfigyelése.

1. Az operáció után néhány npra az idegsejtekben degenerációs jelenségeket észleltünk. A sebzés felszínén levő idegsejtekben számos vakuolum volt látható. A citoplazma RNS-ben igen szegény.

2. A regeneráció jelei az operáció után csak a 17-ik napon jelentek meg, amikor is a sebzési felszínen a regenerációs bimbó volt látható, abban számos osztódó gliasejt, és néhány osztódásban levő idegsejt.
3. Az 58-ik napon már a regeneráció teljesen befejeződött, amikor is az eltávolított ganglionrész kiegészült és a ganglion sejtés kéregállománya megegyezett a kontroll állatok ganglionjának hisztológiai felépítésével. Megfigyeléseink alapján megállapítottuk, hogy az *Anodonta cygnea* L. idegrendszerének regenerációja az ún. neoblasztok részvételével és a megmaradt idegtörzs aktív közreműködésével regenerálódik.

IRODALOM

1. AROS, B. (1962) Kísérleti hisztológiai hisztokémiai és elektromikroszkópos vizsgálatok gerinctelenek idegrendszerének neuroszecrétiós tevékenységére vonatkozólag. *Kandidátusi disszertáció, Budapest.*
2. LENDER, TH. (1956) L'inhibition de la régénération du cerveau des Planaires *Polycelis nigra* (Ehrbg.) et *Dugesia lugubris* (O. Schm.) en presence de broyats de têtes ou. de queues. *Soc. Zool. France*, **81**, 192—199.
3. LENDER, TH. (1956) Analyse des phénomènes d'inhibition dans la régénération des planaires. *Ann. Biol.*, **32**, 457—471.
4. PETROV, V. NY. és L. M. BELOVA (1968) Néhány gerinctelen állat központi idegrendszere regenerációs folyamatának összehasonlító vizsgálata. *Kandidátusi disszertáció. Har-kov, 1968.*
5. TÖRÖK, L. J. (1959) Az idegrendszer morphogenetikai szerepének vizsgálata a *Dugesia* (*Euplanaria*) *lugubris* örvényféreg-fajon. *Biol. Köz.*, **3**, 79—108.
6. WOLF, ET., LENDER, TH. (1950) Sur le déterminisme de la régénération des yeux chez une Planaire d'eau douce *Polycelis nigra*. *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 1213—1216.

ДАННЫЕ К РЕГЕНЕРАЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ БОЛОТНЫХ МОЛЛЮСКОВ (*Anodonta cygnea* L.)

Марко И. Барани И.

Функциональные явления; после операции наблюдались расстройства ретракторных мышц; животные не изменили свое место и не реагировали на соприкосновение. На 7 и 8-ой день появились признаки восстановления деятельности ретракторных мышц; животные реагировали на соприкосновение, но ножки не втягивали. На 17—18-ой день восстанавливалась нормальная функция; ретракторные мышцы животных хорошо функционировали, вследствие чего они интенсивно реагировали на соприкосновение и хорошо двигались.

Явления дегенерации и регенерации: через несколько дней после операции наблюдались явления дегенерации в нервных клетках. Клетки вблизи раны были заполнены вакуолями и их цитоплазма содержала очень мало РНК. Признаки регенерации появились только на 17-ой день; на поверхности раны появилась разрастающаяся ткань регенерации, имеющая много делящихся клеток глии и несколько нервных клеток. На 58-ой день регенерация закончилась; удаленная часть ганглия дополнилась, а клеточная часть его коркового вещества соответствовала гистологической структуре контрольных животных.

На основании наших наблюдений установили, что регенерация нервной системы происходит при помощи так называемых необластов и активного участия остатка нервного ствола.

DATA ON THE REGENERATION OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF THE LAKE-MUSSEL

I. Markó and I. Baranyi

A) *Tracing of functional phenomena*

1. Functional derangement of the animals' retractor muscles was observable after the operation: they didn't react to touching. The normal locomotory movement of the animals ceased.

2. On the 7th—8th day after the operation the function of the retractor muscle began to recover. As a proof to this, they reacted to touching, but they couldn't yet retract the leg between the shells.

3. On the 17th—18th day the normal function of the animals has already recovered, the retractor muscles worked sufficiently, therefore the animals moved normally on the bedding, and reacted to touching intensively.

B) *Observation of degenerative and regenerative phenomena*

1. Some days after the operation degenerative phenomena were observed in the neurons. In the neurons, laying on the wounding surface several vacuoles were visible. The cytoplasm was rather deficient in RNA.

2. Signs of the regeneration appeared only on the 17th day after the operation, when on the wounding surface the regenerative blastema was observable, with several dividing glial cells and some neurons in division.

3. On the 58th day the regeneration ended perfectly when the removed part of the ganglion was completed and the cellular cortex of the ganglion became identical with the histological structure of the ganglion of the control animals.

According to our observations it was stated, that the regeneration of the nervous system in case of *Anodonta cygnea* L. proceeds by participation of the so-called neoblasts, and in active contribution with the remained part of the nervous trunk.

A TAVIKAGYLÓ (ANODONTA CYGNEA L.) NEUROSZEKRÉCIÓS TEVÉKENYSÉGÉNEK ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA ÖSZTRADIOLPROPIONÁT HATÁSÁRA

BARANYI ILONA

Eötvös Loránd Tudományegyetem Általános Állattani Tanszéke, Budapest

Beérkezett: 1973. február 12-én

Bevezetés

A korábbi elektronmikroszkópos vizsgálatokban (Baranyi 1967, 1970, 1971) megfigyeltük, hogy a tavikagyló központi idegrendszerében 2000—3000 Å átmérőjű elektrondenz granulumok vannak. A továbbiakban más szerzők adatait megerősítve (Quattrini 1966, Josse 1969 stb.) azt is megállapítottuk, hogy ezen granulumok az idegsejtek citoplazmájában az állatok gametogenezisének időszakában igen nagy mennyiségben halmozódnak fel.

Mivel a korábbi vizsgálataink során nem tudtuk megfigyelni a szekretum képződésének és kiürülésének az útját, ezért jelen vizsgálataink célja a szekretum-képződés és kiürülés nyomonkövetése volt a tavikagyló idegrendszerében, kísérleti körülmények között.

Anyag és módszer

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok céljára 60 db tavikagylót (*Anodonta cygnea* L.) használtunk fel. A kísérleteinkben hatóanyagként osztradiolpropionátot alkalmaztunk, figyelembe véve e hormonok gametogenezist, RNS és fehérjeszintézist serkentő hatását. Az állatokat olyan időszakban (november) kezeltük a hormonnal, amikor azoknak szekréciós neuronjai szekrétumot nem tartalmaztak.

Az állatoknak 0,4 µg/g testsúly osztradiolpropionátot injekció formájában a lábizmokba adagoltuk 10 napon keresztül. A hormon beadása után 4, 24, 48, 96 órás, 9 napos és 10 napos kezelés után az állatokból a központi idegrendszert kioperáltuk, elektronmikroszkópos vizsgálat céljára feldolgoztuk és UEMV 1000-B típusú szovjet gyártmányú elektronmikroszkóppal megvizsgáltuk.

A kísérletekben csak nőnemű állatokat használtunk fel; az ivarmeghatározást szövettanilag ellenőriztük.

Eredmények

Vizsgálataink értékelését a kontroll anyag leírásával kezdjük. Az 1. képen idegsejtmag részlet látható, amelyen a nucleolus normál terjedelmű,

és denz kromatin állománya szegényes. A citoplazmában mitokondriumok és ergasztoplazma ciszternák, valamint glikogén szemcsék látszanak.

A kezelés után 4 órával azt észleltük a vizsgálati anyagban, hogy az idegsejtek magjában a nucleolus jelentősen megnövekedett, ugyanakkor a denz-kromatin mennyisége (2. kép) — a kontroll állatokhoz viszonyítva — csökkent. A 24 órás vizsgálati anyagban feltűnő volt a denz kromatin felszaporodása és a nucleolus állományának csökkenése (3. kép). A citoplazmában a Golgi-apparátus kiterjedésének a megnövekedése volt észlelhető (4. kép).

A kezelés után 48 órával a Golgi-apparátus széli zónájában elektron-denz anyagot tartalmazó 1800–3000 Å átmérőjű vezikulumok tömeges lefűződése volt megfigyelhető (5. kép). 96 órától 6 napon keresztül tartó kezelés után az 1800–3000 Å átmérőjű vezikulumok a citoplazmát teljesen kitöltötték (6. kép). Az így képződött elemi membránnal határolt denz-testek morfológiájukat tekintve megfelelnek a szekrétrum granulomoknak. A Golgi-apparátust csak néhány ciszterna képviseli (7. kép). A sejtmag morfológiai képe megegyezik a szekretáló fázisban levő sejtmagokéval.

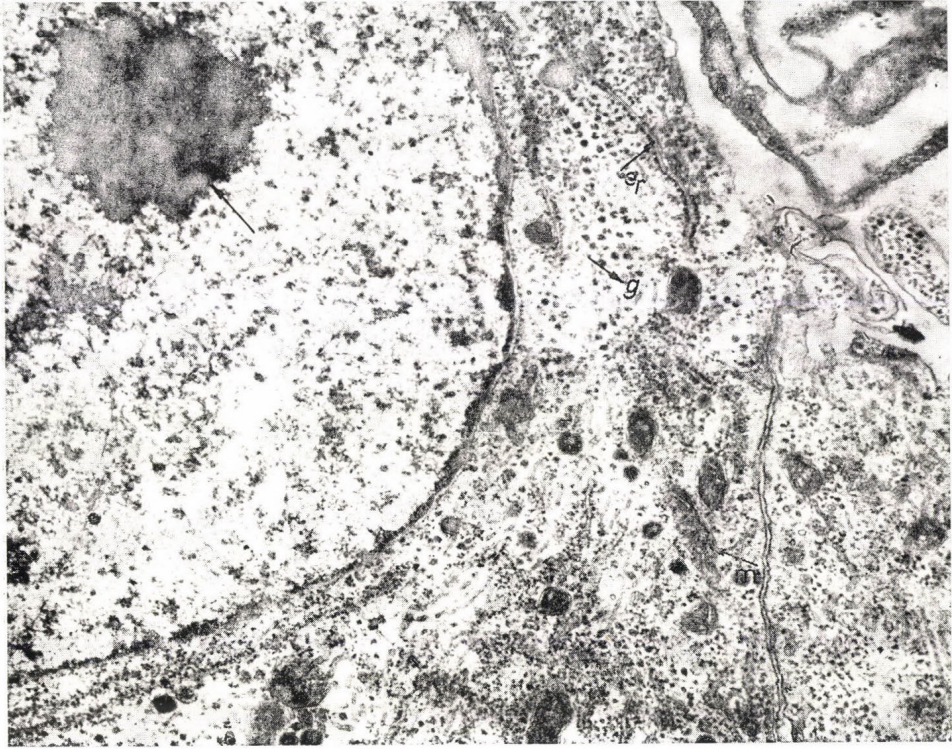
A 10 napos kezelés után gyakran lehetett olyan sejteket megfigyelni, amelyekben számos üres vezikulum van; feltehetőleg ezen képletekből a neuroszekrétrum ürült ki (8. kép).

A neuropil területén számos idegrost átmet szetében neuroszekrétrum-granulumok láthatók (9. kép).

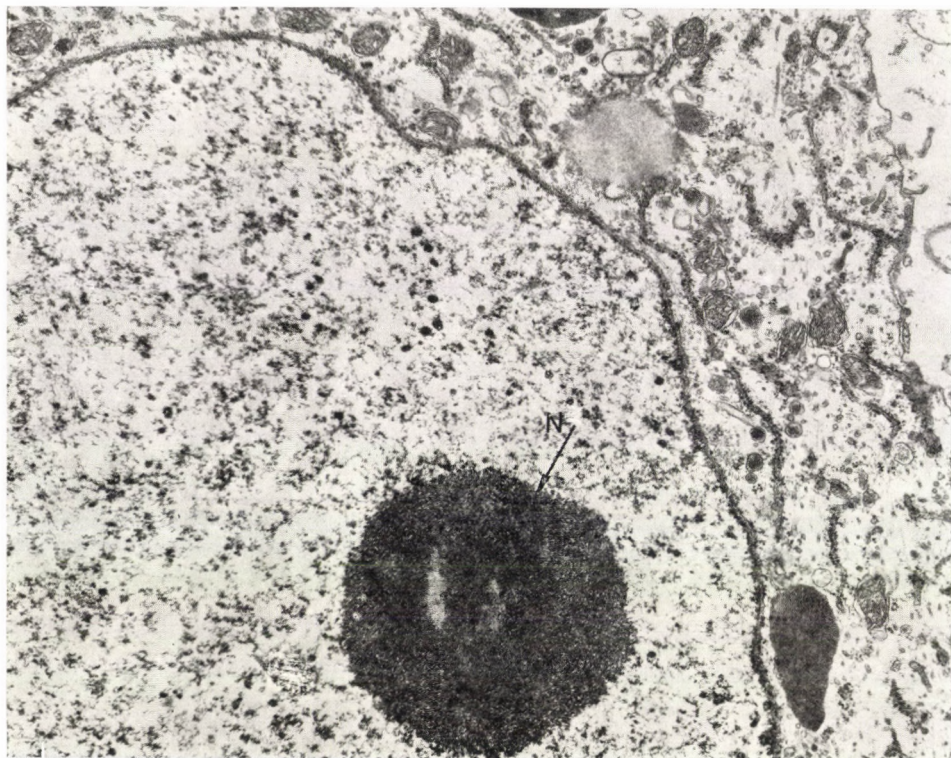
Megvitatás

Ismeretes, hogy ösztrogének a fehérjeszintézis elősegítésében fontos szerepet játszanak (Rosenbaum 1966, Murphy 1968, Vermeulen és munkatársai 1968, cit. in: David R. 1972, Oberlander 1972). Az ösztrogének nemcsak a gerinces, hanem a gerinctelen állatokban is előfordulnak. Gottfried és munkatársai (1970), Bern (1971), Blanchet (1972) kimutatták, hogy az ösztrogének a gerinctelen állatokban a gametogenezis szabályozásában is részt vesznek (Durchon 1962, Parchet és munkatársai 1972 Annelidákban; Drosowsky 1972 Molluskákban). Molluskákban a gametogenezis időszakában az idegsejtek egy részében a szekrétrum granulomok* halmozódnak fel (Quattrini 1966, Baranyi 1967, Josse 1969, Lubet 1972). Ezen idegsejtek szekréciós működése feltehetőleg az állatok endokrin működésének szabályozásával van kapcsolatban (Juberthie 1970, Bern 1971).

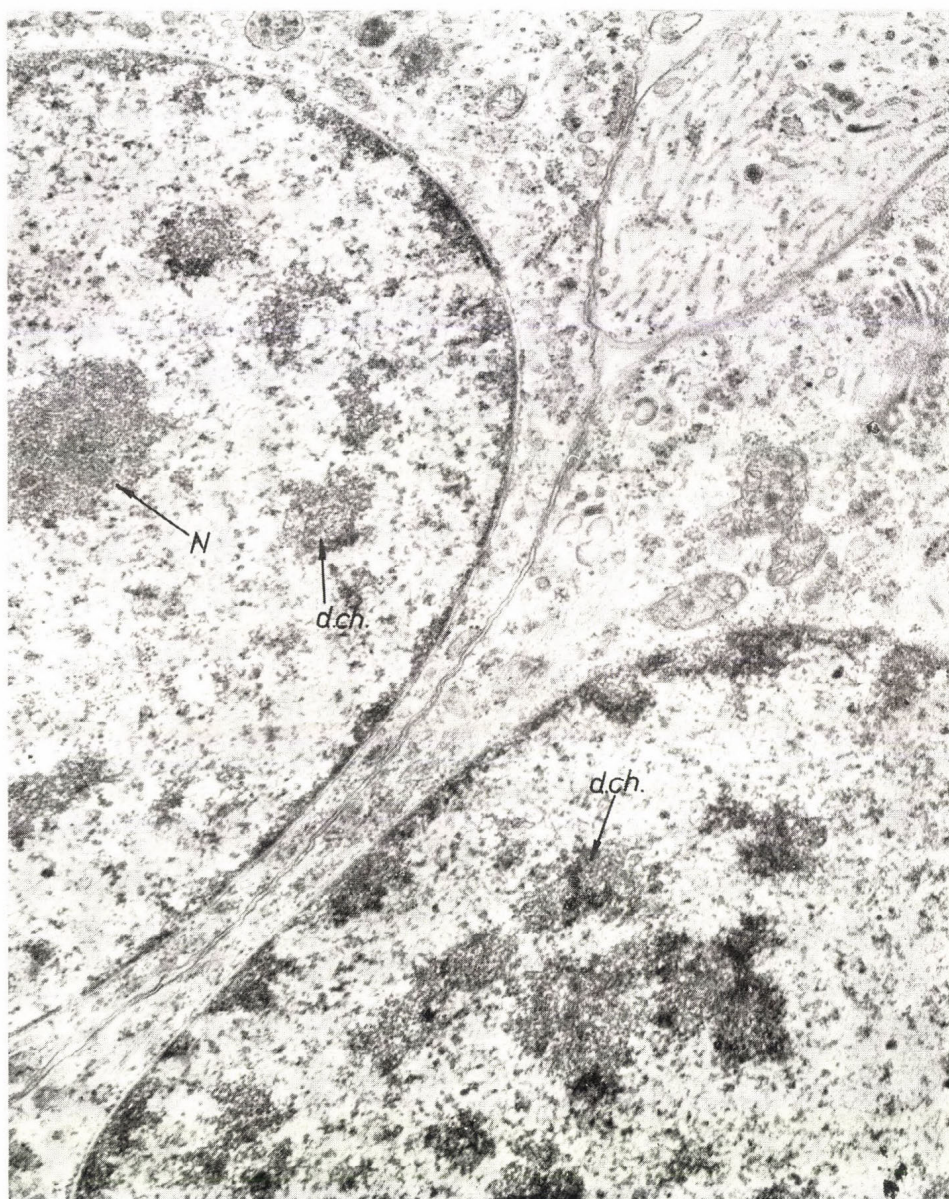
Saját vizsgálatainkat az irodalmi adatokkal összevetve azt észleltük, vagy az ösztradiolpropionát beadása után már 4 óra elteltével a szekréciós idegsejtekben jelentős citológiai elváltozás észlelhető: a nukleolus megnövekedett a kontrollhoz viszonyítva. A 24 órás kezelés után már nem csak a magban, hanem a citoplazmában is változás volt észlelhető. A citoplazmában felszaporodott a durva felszínű membrán, a szabad riboszomáknak a mennyisége is megnövekedett, a Golgi-apparátus is számottevő. Az idegsejtek citológiai képe megegyezett a szekretáló idegsejtek morfológiájával. A 48, ill. a 96 órás kezelés után a citoplazmában neuroszekrétrum granulomok tömeges megjelenése volt észlelhető, ugyanakkor a citoplazmából más sejtorganellumok eltűntek. A téli időszakban viszonylagos nyugalmi periódusban levő idegsejteket — ösztradiolpropionát megfelelő adagolásával — sikerült olyan szekréciós



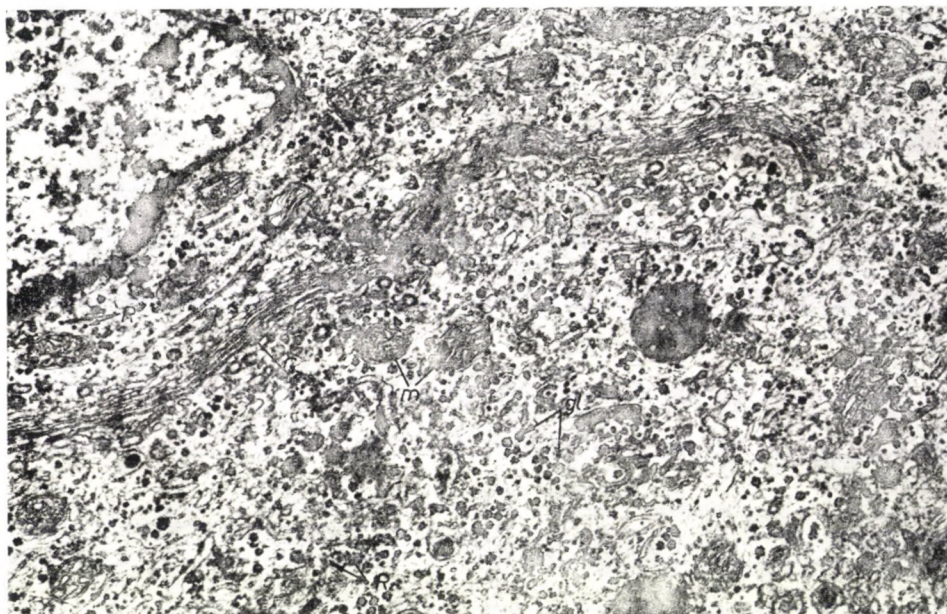
1. kép. Részlet kontroll idegsejtből. A sejtmag és a magvacska normál méretű és tömör szerkezetű. A citoplazmában mitokondriumok (=m), ergasztoplazma ciszternák (= er), glikogén granulumok (= g) vannak. 10 800 ×



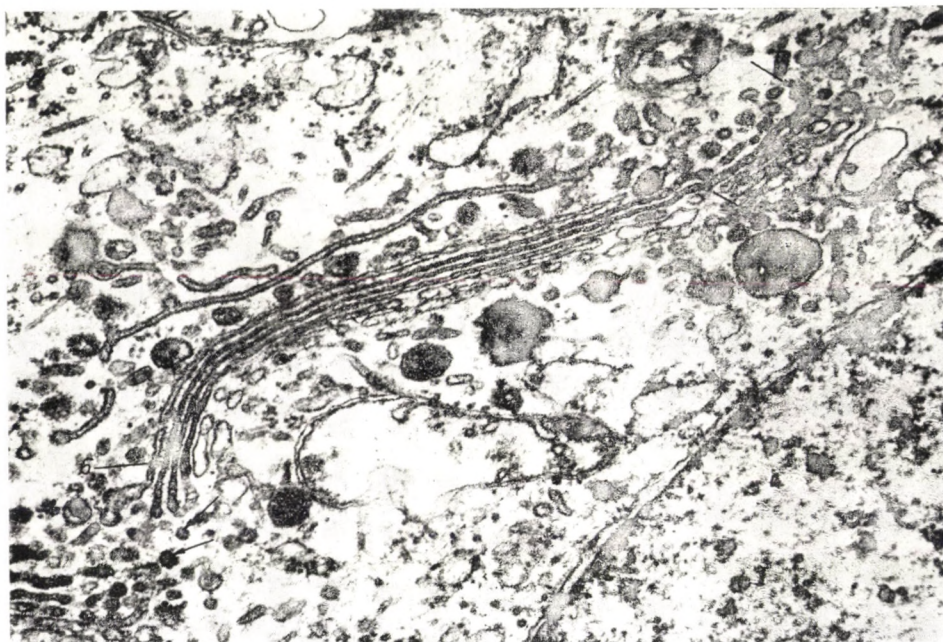
2. kép. 4^h kezelés után a magban a nucleolus (= N) megnövekedett. 10 800 ×



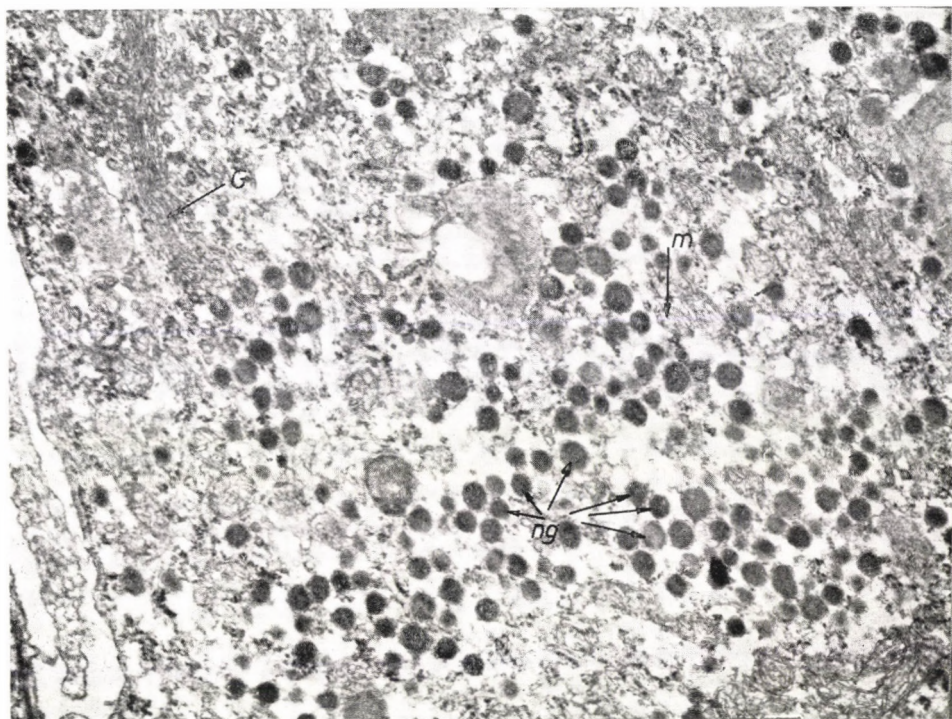
3. kép. 24^h kezelés után a magban a nucleolus (= N) állományának csökkenése, és a denz chromatin (= d ch) felszaporodása látható. 10 800 ×



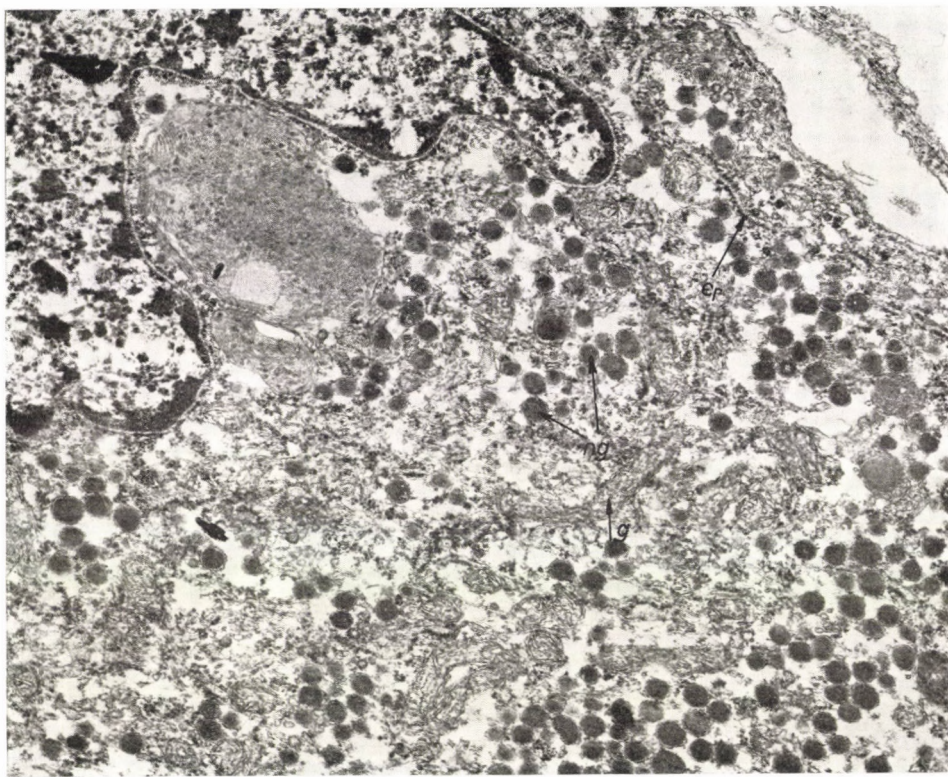
4. kép. Részlet a 3. sz. képből. Golgi-εpparátus (= G) mitokondriumok (= u) és szabad riboszómák (= R) láthatók. 10 800 ×



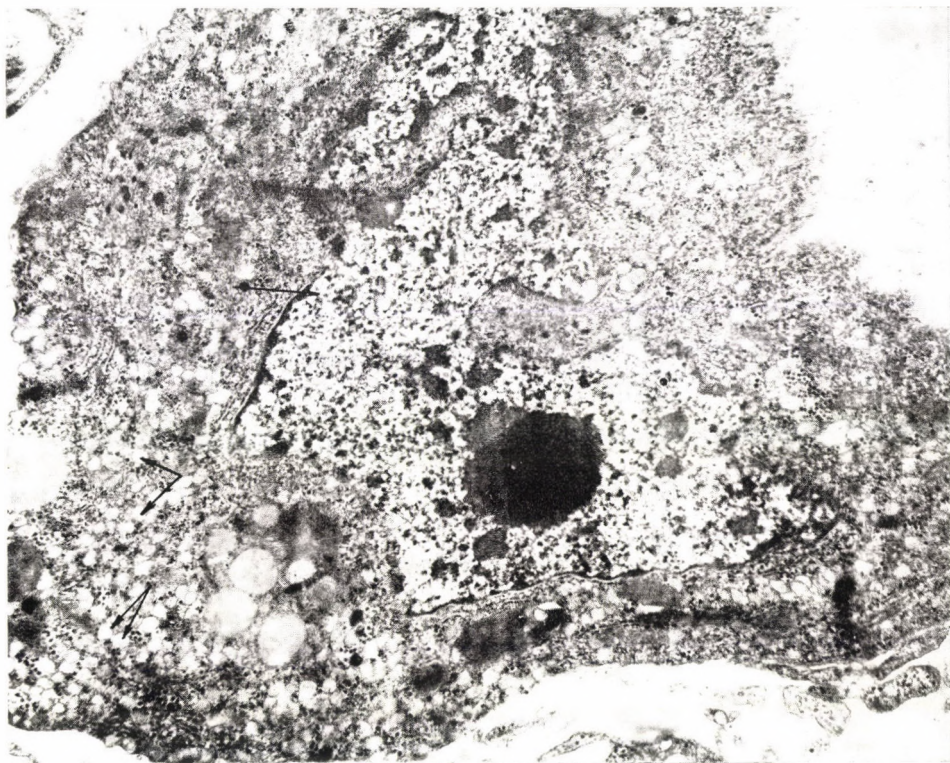
5. kép. 48^h kezelés után a citoplazmában a Golgi széli zónájában 1800—3000 Å átmérőjű vesiculum látható. 34 000 ×



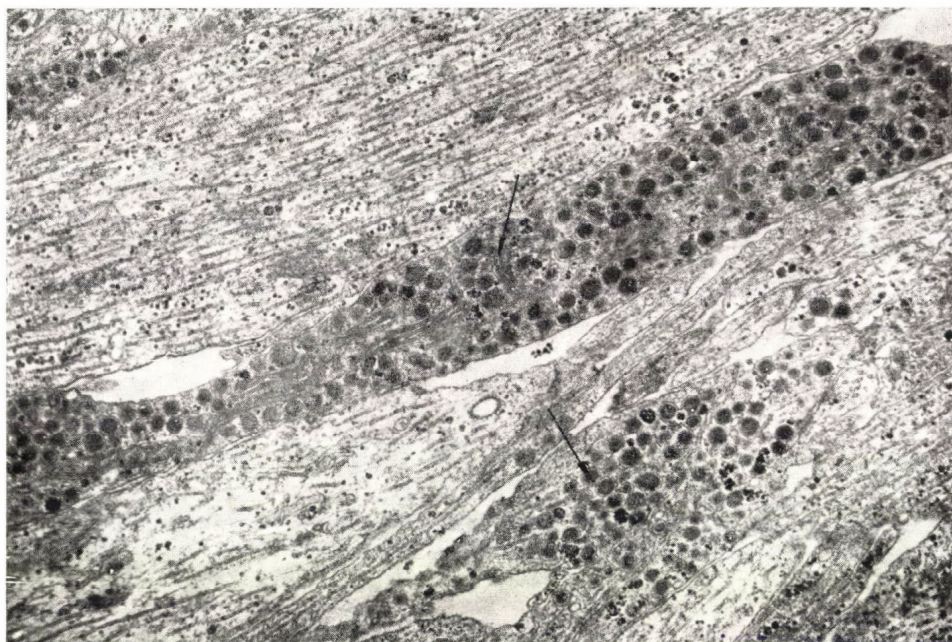
6. kép. Citoplazma részlete 96^h kezelés után, benne számos tömött elektrodenz 2000—3000 Å átmérőjű neuroszekrétum (= ng) granulum látható. 24 000 ×



7. kép. Idegsejt részlete 6 napos kezelés után. Neuroszekréta granulumok (= ng) között, ergasztoplazma (= er) ciszternák láthatók. 24 000 \times



8. kép. 10 napos kezelés után a citoplazmában a szekrétumban a szekrétumgranulumok ki-
ürülnek. A sejtmag szabálytalan, a magvacska a kontrollhoz viszonyítva nagyobb. 7000 \times



9. kép. Neuropil részlet: az idegrostok átmetszetében neuroszekréta granulumok láthatók
24 000 \times

fázisba juttatni, mintha azok természetes körülmények között, nyári időszakban volnának. Ha hosszabb ideig (6–10 napon át) kezeltük az állatokat e hormonnal, akkor a szekrétrum-granulumoknak a citoplazmából az axonon keresztül való kiürülését tudtuk nyomon követni. Vizsgálataink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az ösztadiolpropionát megfelelő adagolásával, az idegsejtekben az állatok viszonylagos nyugalmi periódusában (télen) is kiváltható szekrétrum-képződés. Az így képződött szekrétrum szintézise a mag RNS-megváltozásával az endoplazmás retikulum és a Golgi-apparátus aktív közreműködésén keresztül valósul meg. Ennek a folyamatnak a vizsgálatát izotópos technikával kívánjuk folytatni.

Összefoglalás

1. Az ösztadiolpropionát megfelelő adagolásával a tavikagyló központi idegrendszerében a szekrétrum képződését, illetve annak kiürülését lehet nyomon követni.

2. A tavikagyló központi idegrendszerében a szekrétrum-képződést az ösztadiolpropionát a fehérjeszintézis serkentése révén indítja meg az endoplazmás retikulum és a Golgi-apparátus aktív közreműködésével.

IRODALOM

1. BARANYI I. (1967) A tavikagyló (*Anodonta cygnea* L.) központi idegrendszerében végbe-menő neuroszekréciós tevékenység hisztológiai és hisztokémiai vizsgálata. — Kandi-dátusi értekezés, Budapest, 1967.
2. BARANYI I. (1970) A tavikagyló (*Anodonta cygnea* L.) központi idegrendszerének anatómiai és hisztológiai felépítése. — *Biol. Közl.*, **18**, 33–39.
3. BARANYI I. (1971) Adatok a tavikagyló (*Anodonta cygnea* L.) neuroszekréciós sejtjeinek finom szerkezetéhez. — *Biol. Közl.*, **19**, 143–148.
4. BLANCHET, M. F. (1972) Metabolism of steroids, in vitro in the male crab *Catcinus maenas* L. — *Comp. Biochem.*, **41**, 252–261.
5. BERN, H. H. (1961) The status of neuroendocrine structures in invertebrates analogous with those in vertebrates. — *Experientia* **27**, 110–112.
6. DAVID, R., IDLER (1972) Steroids in nomammalian vertebrates. — Acad. Press, New York and London 371–385.
7. DURCHON, M. (1962) Neurosecretion and hormonal control of reproduction in Annelids. — *Gen. Comp. Endocrinol.*, Suppl. **1**, 227–240.
8. DROSWODSKY, M., LANGECAUP, D., BARDON, O. (1972) Biosynthese des teroïdes dans les gonades de *Mytilus edulis* L., *Crepidula fornicata* Phil. — *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**, 588–589.
9. GAINER, H. (1972) Patterns of protein synthesis in individual identified molluscan neurons. — *Brain Res.*, **39**, 369–385.
10. GOTTFRIED, H., DORFMAN, E. I. (1970) Steroids of invertebrates. IV. On the optic tentacle gonadal axis in the control of the male-phase ovotestis in the slug (*Ariolimax californicus*). — *Gen. Comp. Endocrinol.*, **15**, 101–119.
11. JOOSSE, J. (1963) The dorsal bodies and neurosecretory cells of the cerebral ganglia of *Lymnaea stagnalis* L. — *Acta Physiol. Pharmacol. Nederlandica*, **12**, 1–3.
12. JUBERTHIE, C. (1970) Neurosecretions chez les invertébrés souterrains. La neurosecretion et les glandes endocrines chez le Coleoptère traglobie *Closania* Winkler. — *Ann. de Spéléologie*, **25**, 300–317.
13. LUBET, P. E. (1972) Mise en évidence d'actions somatotropes contrôlées les ganglions cérébriodes chez le Mollusque Mesogastropode, *Crepidula fornicata* Phil. — *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**, 604–605.

14. OBERLANDER, H. (1972) α -Ecdysone inducent DNA synthesis in cultured wing disks of *Galleria mellonella*: Inhibition by 20 hydroxyecdysone and 22-isoeecdysone. — *J. Insect. Physiol.*, **18**, 223—228.
15. PARCHET, M. (1972) Variation de l'active endocrine des cerveaux en fonction de l'espece, du sexe et du cycle vital chez quelques nereidiens (Annelide, Polychaetes). — *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**, 276—283.
16. QUATTRINI, D. (1966) Contributo allo Conoscenza dei fenomeni neurosecretori e della ultrastructure della cellula nervosa dei Molluschi, I. Osservatrioni su un gruppo di neuroni secernenti di *Milax gogates* (Draparnand) Gastropoda Pulmonata. — *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, **71**, 114—147.

ДЕЙСТВИЕ ЭСТРАДИОЛ-ПРОПИОНАТА НА НЕЙРОСЕКРЕТОРНУЮ
ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ БОЛОТНЫХ МОЛЛЮСКОВ
(*Anodonta cygnea* L.)

Электронно-микроскопическое исследование

Барани И.

При соответствующей дозировке эстрадиол-пропионата можно проследить образование секрета и его выделения в центральной нервной системы болотных моллюсков. Эстрадиолпропионата осуществляет образование секрета через усиление синтеза белков при активном участии эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи.

ELECTRON MICROSCOPIC EXPERIMENTS ON THE NEUROSECRETORY ACTIVITY
OF THE LAKE-MUSSEL (*ANODONTA CYGNEA* L.) EFFECTED BY OESTRADIOL
PROPRIONATE

I. Baranyi

1. Formation and release of the secrete can be traced in the central nervous system of the lake-mussel by appropriate dosing of oestradiol proprionate.
2. Oestradiol proprionate starts the formation of secrete in the lake-mussel's central nervous system by stimulating the protein synthesis, with active contribution of the endoplasmic reticulum and Golgi-apparatus.

HORMONTERMELÉS ÉS SEJTOSZTÓDÁS FELNŐTT PATKÁNYOK MELLÉKVESE SEJTTENYÉSZETÉBEN

GYÉVAI ANGÉLA, RAPPAY GY., KONDICS L. és STARK E.

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest

Beérkezett: 1973. november 28-án

A hormonok szintézisének, raktározásának és kibocsátásának, valamint sejtszinten történő hatásuk vizsgálatában a különböző belső elválasztású szervekből készített szövettenyészetek hasznos modell-rendszernek bizonyultak. A felnőtt egér mellékvese tumorból kialakított sejtvonalak például nemcsak a sejtek ACTH hatására bekövetkezett sztereoidogenetikus aktivitásának, de az akut és krónikus ACTH kezelés után, a különböző anyagsere folyamatokban történt változások vizsgálatában is igen hasznosak voltak (Kowal, 1970). E sejtek azonban eltérnek a normál mellékvese sejtektől; állandóan osztódnak, ACTH nélkül is termelnek szteroid hormont, amely eltér a normál állatban található végterméktől. Az utóbbi években több szerző adott hírt arról, hogy 300—400 gr-os patkányok mellékveséjéből proteolitikus enzimek segítségével az ACTH biológiai tesztelésére alkalmas sejtszuspenzió nyerhető (Kloppenborg és mts., 1968; Halkerson és mts., 1968; Swallow és mts., 1969). Az ilyen sejtszuspenzió elméletileg alkalmas arra, hogy belőle sejttenyészet alakuljon ki. Kérdés, hogy e szuszpenzió sejtjei *in vitro* körülmények között osztódnak-e, továbbá megtartják-e specifikus funkciójukat? Vizsgálatainkban ezekre a kérdésekre kívántunk feleletet kapni.

Anyag és módszer

Egy-egy alkalommal 20 db CFE törzsből származó 300—400 g-os hím patkányt használtunk fel. Az állatok dekapitálása után a mellékveséket antibiotikumokat tartalmazó Tyrode-oldatba gyűjtöttük. A mellékvesékről a tokot lehúztuk és a szerveket kis darabokra vágtuk. A darabkákat HAM F10 kémiailag definiált tápfolyadékba tettük. A tápfolyadék 0,25% tripszint tartalmazott (TRL Worthington Biochemical Corporation). 125 ml-es Belleo tripszinező flaskában a darabkákat szobahőn 5×15 percig kevertük forgómágnessel. Minden 15 perc után a felülúszót leszívtuk és 600 g-vel centrifugáltuk 10 percig. Az ötszöri tripszinezésből nyert sejteket összeöntöttük és HAM F10 és foetális borjúsavó (Bio-Cult Labs) 8 : 2 arányú keverékében reszuszpendáltuk. A $0.8-1.0 \times 10^6$ /ml sejtet tartalmazó tápfolyadékból 2—2 ml-t Leighton típusú, üveglemezt tartalmazó tenyészcsőbe tettünk, fénymikroszkópos és autoradiografiás vizsgálataink céljára. 3—3 ml-t, ill. 15 ml-t Falcon

típusú Petri-csészékbe, ill. palackokba helyeztünk elektronmikroszkópos feldolgozásra és koritkosteron meghatározásra.

Fénymikroszkópos feldolgozás: Az üveglemezeken növényi sejteket, valamint a kiindulási szuszpenzióból készített keneteket metanolban fixáltuk és 3%-os Giemsa-oldattal festettük.

Autoradiográfiás feldolgozás: A Leighton-csőekben növényi sejtekhez a tenyésztés 8. napján 1 $\mu\text{Ci/ml}$ H³-timidint adtunk Eagle tápfolyadékban (spec. act. 16,5 Ci/mM Amersham, England). Egy óra múlva az aktív timidint tartalmazó folyadékot leöntöttük és a tenyészeteket 5 \times 1 percig mostuk. Parker 199 tápfolyadékkal. Methanolos fixálás után a lemezeket tárgylemezre ragasztottuk és Kodak AR 10 stripping filmmel fedtük. A preparátumokat három hét múlva hívtuk elő. Hasonlóképp készítettünk autoradiogramokat a kiindulási sejtsuszpenzióból is. 500–2000 sejtet számoltunk le, hogy a tenyészetek jelzőindexét megállapítsuk.

Elektronmikroszkópos feldolgozás: A műanyag edényekben növényi tenyészeteket a tenyésztés 6. napján két csoportba osztottuk. Az egyik továbbra is a sima tápfolyadékot kapta, míg a másik másnaponként, a mosások alkalmával 25 mE/ml ACTH-t (Organon, Oss) is kapott. A tenyésztés 14. napján a kontroll és ACTH kezelt tenyészeteket in situ 2,5% glutáraldehydben fixáltuk (kakodilát pufferben pH 7,4) két órán keresztül 4 °C-on. Éjszakán át mostuk a pufferben és 1% OsO₄-dal 1 óráig utófixáltunk. Víztelenítés után a tenyészeteket Durcupan ACM-be ágyaztuk, Reichert ultramikrotommal metasztettük és JEM 6AS elektronmikroszkópban készítettük a felvételeket.

A kortikosteron mennyiségét a kontroll és ACTH kezelt tenyészetek tápfolyadékából papírkromatográfia és fluorimetria segítségével határoztuk meg és $\mu\text{g/10 ml/48 h}$ -ban fejeztük ki (Guillemin és mts. 1959; Stark és mts. 1963).

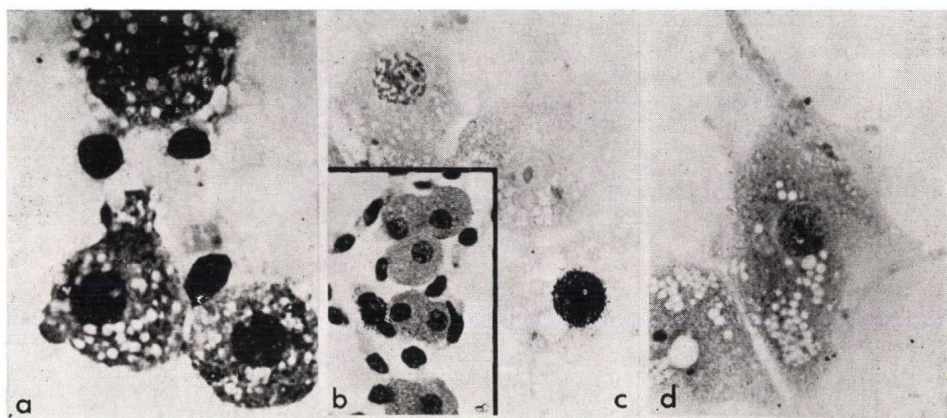
Eredmények

A kiindulási sejtsuszpenzió morfológiája

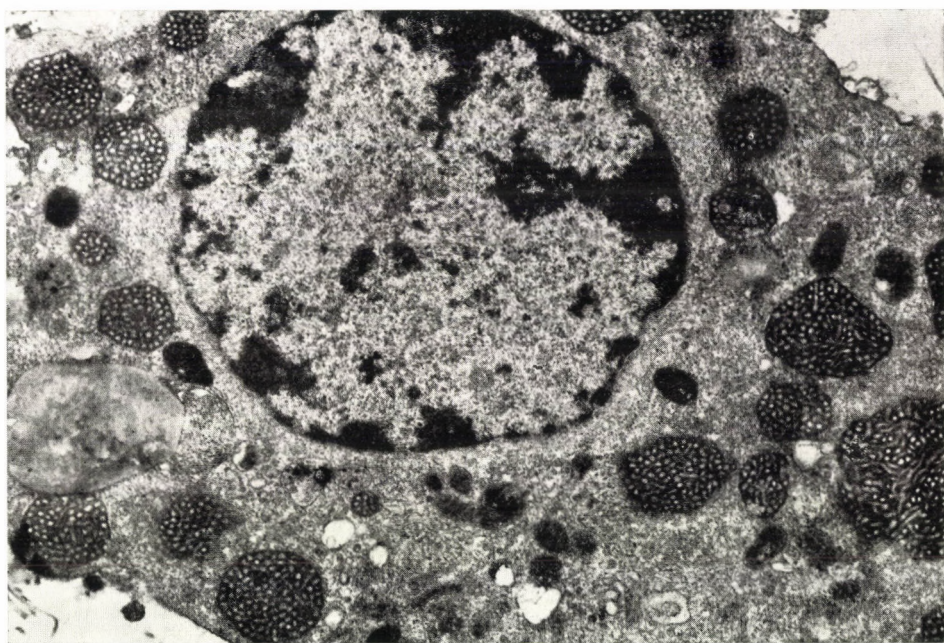
A sok lipidet tartalmazó sejtek 30–35 μ átmérőűek voltak. A kisebb, kb. 10 μ nagyságú sejtek citoplazmája lipidet nem tartalmazott (1.a kép). A sejtek általában egymagvúak, kromatinjuk durva rögös volt. Ritkábban kétmagvú sejtek is előfordultak. Csak kevés sejtben láttunk magvacskát. A sejtek jelzőindexe 1,06% (1. táblázat), általában a kisebb, lipid szegény sejtek jelződtek (1.b kép). A sejtek finom szerkezete a felnőtt patkányok mellékveséjének vagy zona fasciculata vagy zona reticularis sejtjeinek finomszerkezetével egyezett meg. A sejtekben a mitochondriumok vesiculárisak vagy tubulovesiculárisak voltak. A mitochondriumok mátrixa világos vagy sötét, esetenként olyan sejteket is megfigyeltünk, amelyekben mind világos, mind sötét mátrixú mitochondriumok is előfordultak. Az endoplazmás retikulum sima felszínű, a Golgi általában jól fejlett. Zona glomerulosa sejteket a sejtsuszpenzióban nem találtunk (2. kép).

A tenyésztett sejtek morfológiája

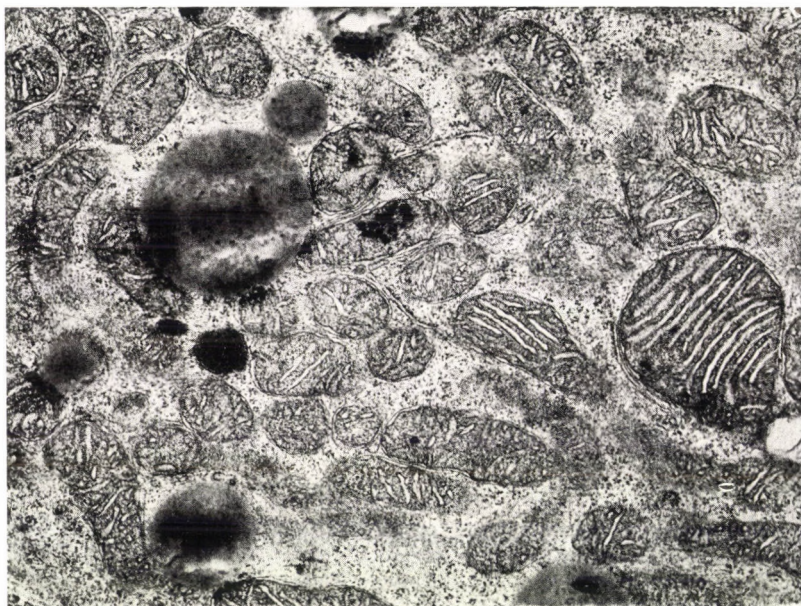
A kiindulási anyagban található kisebb sejtek már 24, 48 óra múlva letapadtak és fokozatosan elnyúltak. A nagyobb, lipidtartalmú sejtek az 5–6.



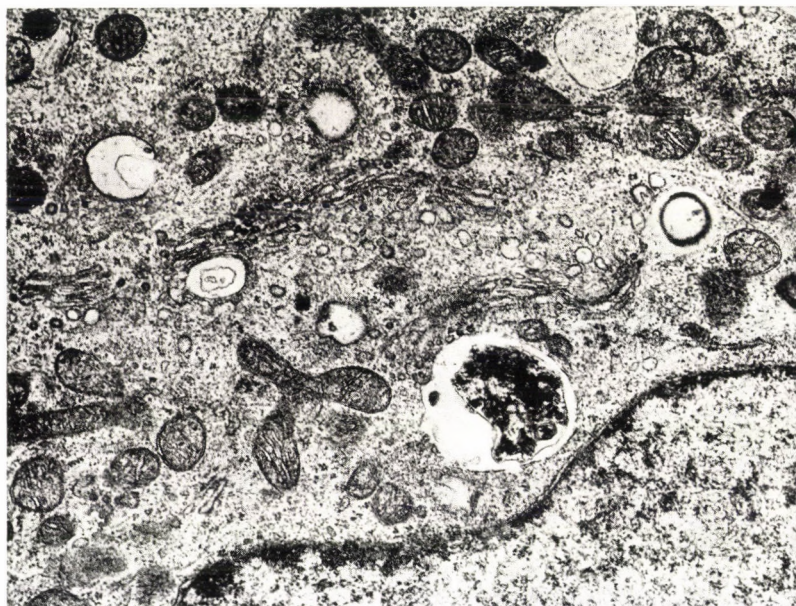
1. kép. Tripszinnel izolált mellékvese sejtek; a) Giemsa festés után $\times 800$, b) autoradiogram a kiindulási anyagból $\times 400$, c) és d) autoradiogram a 8 napos tenyészetekből. (Lásd a szövegben) $\times 800$



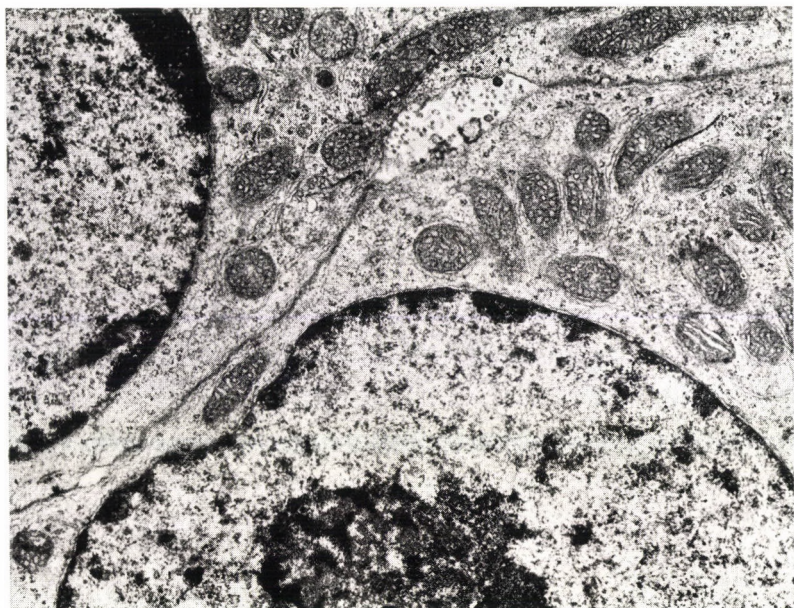
2. kép. A tripszinnel izolált sejtek finomszerkezete. A mitochondriumok szerkezete arra mutat, hogy a sejtek a z. fasciculata sejtei. $\times 13\,500$



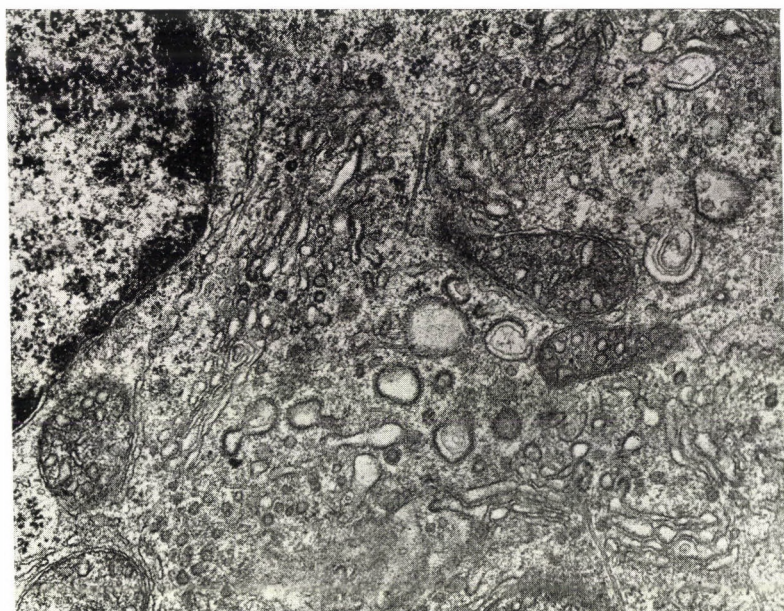
3. kép. ACTH nélkül növő mellékvese sejtek a tenyésztés 14. napján;
a) krisztás és tubulovezikuláris mitochondriumok $\times 20\ 000$



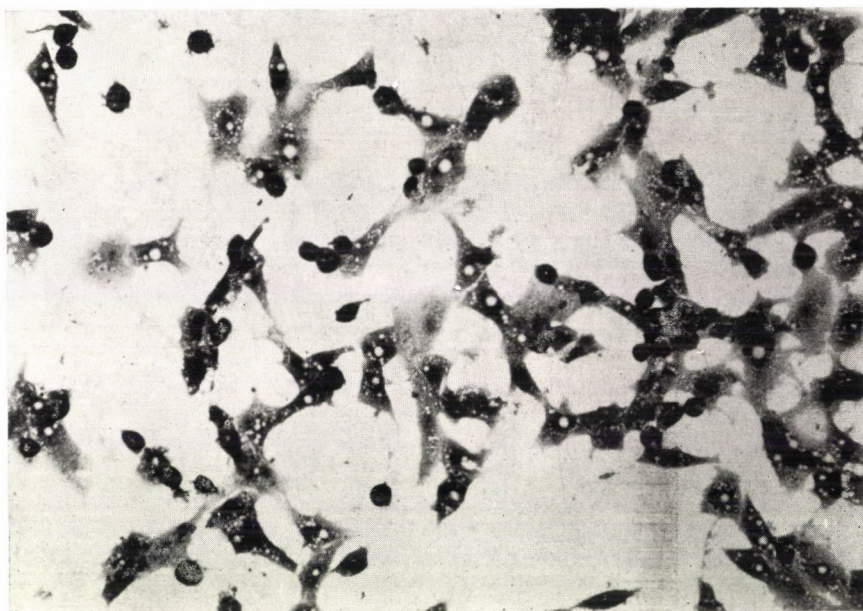
b) durva felszínű endoplazmás retikulum. $\times 20\ 000$



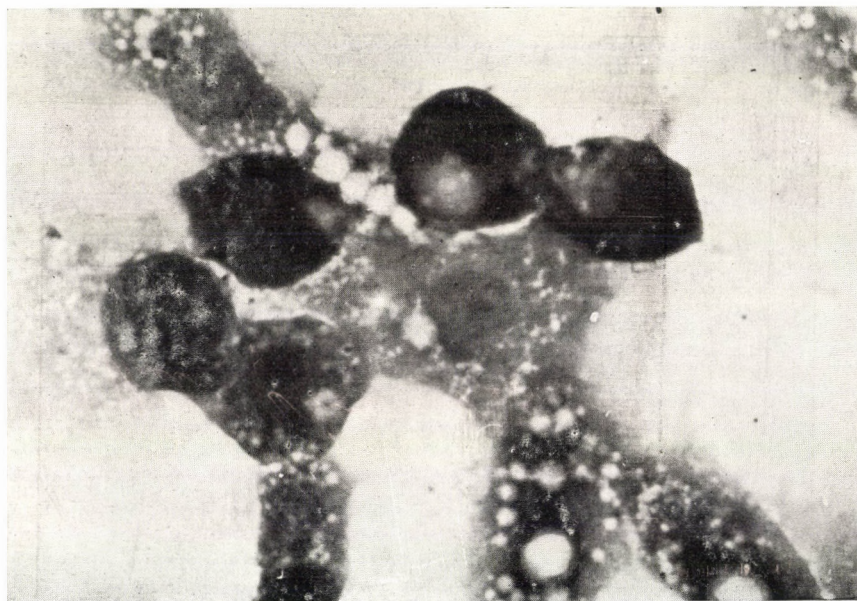
4. kép. A tenyésztés 6. napjától ACTH-val kezelt tenyészetek sejtjei a tenyésztés 14. napján A mitochondriumok egy része vezikuláris belső szerkezetű; a) $\times 20\ 000$



b) $\times 20\ 000$



5. kép. 22 napos tenyészet. A 16. naptól naponként ACTH-t kapott.
A sejtek egy csoportja lekerekedett. $\times 240$. Giemsa festés



6. kép. Nagyítás az 5. képből. Elnyúlt, kissé összehúzódott és lekerekedett sejtek.
 $\times 1500$

1. táblázat

A kiindulási sejtszuspenzió és a 8 napos tenyészetek autoradiográfiás elemzése

Anyag	Autoradio-gramok száma	Összes megszámlolt sejt	Jelzetlen sejtek	Jelzett sejtek	Jelzett sejtek % aránya
			száma		
Kiindulási anyag ₁	1	2 000	1 995	5	0,25
	2	2 000	1 986	14	0,70
	3	2 000	1 988	12	0,60
	4	2 000	1 989	11	0,55
	5	2 000	1 990	10	0,50
Összesen	5	10 000	9 948	52	0,52
Kiindulási anyag ₂	1	500	491	9	1,80
	2	500	490	10	2,00
	3	500	495	5	1,00
Összesen	3	1 500	1 476	24	1,60
1 + 2 Összesen	8	11 500	11 424	76	1,06
8 napos tenyészetek	1	500	453	47	9,40
	2	500	461	39	7,80
	3	500	483	17	3,40
	4	500	446	54	10,80
	5	500	444	56	11,20
Összesen	5	2 500	2 287	213	8,52

napra kerültek ki teljesen. Ekkor a sejtekben már jól lehetett látni a magvacskákat. A populáció ezután fokozatosan benőtte az üveglemezek, ill. tenyészedenyek felületét. A tenyésztés 8. napján készített autoradiogramokból számított jelzőindex 8,5% (1. táblázat, 1.c és d kép).

A tenyésztés 14. napján az ACTH nélkül tenyésztett mellékvesék finomszerkezete eltért a kiindulási anyag sejtjeinek finomszerkezetétől. A mitokondriumok krisztássá, az endoplazmás retikulum durva felszínűvé változott. Primér és szekundér lizoszómákat és autofág vakuolumokat is találtunk a sejtekben. A lipid mennyisége csökkent, a Golgi továbbra is jól fejlett volt (3.a és b kép). Ezeknek a tenyészeteknek a tápfolyadékában, amint azt a 2. táblázatunk mutatja, nagyon kevés kortikosteront találtunk. ACTH kezelt tenyészetekben a sejtek 25–30%-ában ismét megjelent a sima felszínű endoplazmás retikulum és a mitokondriumok vezikulárisokká váltak (4.a és b kép). A tenyészetek tápfolyadékában magas kortikosteron szintet mértünk (2. táblázat).

2. táblázat

Felnőtt patkány mellékvese sejtenyészetek kortikosteron termelése $\mu\text{g}/10\text{ ml}$

A tenyésztés napja	Kontroll	25 mE ACTH/48 óra
6.	0,67	0,56
8.	0,32	2,56
10.	0,21	15,10
12.	0,30	24,20
14.	0,28	28,20

ACTH kezelés után a tenyészetek sejtjei igen jellegzetes morfológiai változást is mutattak. A kezelés után 4—5 nappal a populáció sejtjeinek egy csoportja fokozatosan lekerekedett, míg mások csak kevésbé vagy egyáltalán nem változtatták meg alakjukat (5. és 6. képek). A folyamat reverzibilisnek mutatkozott. Ha az ACTH kezelést beszüntettük, 4—5 nap múlva a tenyészetekben csak elnyúlt sejteket találtunk.

Megbeszélés

A 300—400 gr-os patkányok mellékveséjéből proliferáló és ACTH hatására kortikosteront termelő sejttenyészetek alakíthatók ki. Felnőtt patkányok mellékveséi a szervezet ún. expandáló sejtpopulációihoz tartoznak (Cameron, 1970; Epifanova és mts. 1969), normál körülmények között a sejtek csak igen kis százaléka képes DNS prekursor beépítésére. Japán szerzők 300—400 gr-os patkányok mellékveséinek jelződési indexét *in vivo* pl. 1% körülnek találták (Seki és mts., 1969). A kiindulási szuszpenzióban mi is igen kevés jelzett sejtet találtunk (1. táblázat). Összhangban van ez azzal is, hogy a felnőtt patkányok mellékveséjéből készített anyadarabos tenyészetek sejtjei nem proliferálnak, azaz a tenyészetek nem erednek meg. E patkányok mellékveséit csak organ tenyészetben lehet fenntartani 6—9 napig (Trowell, 1959), ahol a sejtek túlélnek, de nem szaporodnak. Az a tény, hogy tripszines izolálás után a mellékvese sejtek DNS prekuzort építenek be és a populáció szaporodik, arra utal, hogy a tripszinnek a sejtszuszenzió kialakításán túl a sejtek osztódóképességének visszanyerésében is szerepe van. A tripszin mitogén hatását más szövetekre már korábban leírták (Simms és mts., 1957; Sefton és mts., 1970; Burges, 1970). Hasonló megállapítást tettünk mi is felnőtt állatok szöveteinek *in vitro* növekedésével kapcsolatban (Gyévai, 1972). A sejttenyészetek jelződési indexe 8,5% volt, amely megegyezik az enukleált és regenerálódó mellékvesék jelződési indexével *in vivo*, továbbá Armato és Nussdorfer (1972) adataival, akik felnőtt patkányok mellékveséjéből tripszines kezelés után anyadarabos tenyészeteket készítettek és hasonló jelződési indexet találtak. A tripszin mitogén hatása mellett szóltak O'Hare és Neville (1973a) adatai is, akik kollagenáz és hialuronidáz enzim keverékkel felnőtt patkányokból mitotikusan inaktív monolayer tenyészeteket nyertek.

Sejttenyészeink ACTH adás után a felnőtt állat mellékveséjére jellemző szteroid hormont termelték. A maximális válasz folyamatos ACTH adás esetén a 4.—5. nap alatt alakult ki. O'Hare és Neville (1973 a) hasonló megfigyelést tettek mitotikusan inaktív sejttenyészeikben. Az ACTH kezelés megszüntetése után a tenyészeink hormontermelése folyamatosan szűnt meg kb. 4—5 nap alatt. Az ACTH adás utáni késleltetett hormon válasznak az okát abban látjuk, hogy az ACTH nélkül növekvő mellékvese sejtek finomszerkezete lényegesen eltér az intakt állat mellékvese sejtjeinek finomszerkezetétől. Elsősorban a hormon szintézisben kulcsszerepet játszó simafelszínű endoplazmás retikulum és vesikuláris mitokondriumok hiányoztak, amelyek a szteroidogenezisben fontos enzimek helyei. ACTH kezelés után 4—5 nappal, amint ezt elektronmikroszkópos vizsgálataink bizonyították, a sejtek 25—30%-ában újra megjelent a sima felszínű endoplazmás retikulum és a mitokondriumok szerkezete is megváltozott. A sejteken először az ACTH-nak a mellékvesék

finomszerkezetét regeneráló ún. trofikus hatása érvényesült és csak ezután történt a szteroidogenezis. E megfigyeléseink megegyeznek Armato és Nussdorfer (1972) adataival, akik hasonló megfigyelést tettek felnőtt patkányok anyadarabos tenyészeiben, továbbá Kahri (1966) és Milner (1972) korábbi adataival, akik patkányembriók és újszülött patkányok mellékveséjéből készített anyadarabos tenyészetekben figyelték meg az ACTH-nak a sejtek finomszerkezetére kifejtett hatását. Saját korábbi vizsgálataink szerint nem mutatható ki ez a trofikus hatás emberi embrionális mellékvese tenyészetekben, ami arra utal, hogy az ACTH-nak a mellékvese sejtek finomszerkezetére gyakorolt hatása nem minden faj esetében azonos, bár a szteroidogenetikus hatásában nincsen eltérés (Gyévai és mts., 1972).

Mint ismert, a 3'5' ciklikus adenozin monofoszfát (cAMP) kulcsszerepet tölt be a különböző hormonok sejten belüli hatásában (Robison és mts., 1968). A mellékvese sejtekben az ACTH aktiválja a membránban levő adenil cikláz és ez azt eredményezi, hogy a cAMP koncentrációja a sejtekben nő. Ez a megnövekedett cAMP koncentráció szükséges a mellékvese sejtek szteroidogenezisének megindulásához (Garren és mts., 1968; Ney 1969). Az utóbbi időben egyre több adat szól amellett, hogy a cAMP sejten belüli koncentrációja és a sejt proliferatív aktivitása között összefüggés van. A polioma vírussal transzformált sejtekben például kisebb az adenil cikláz aktivitása, mint a nem transzformált fibroblasztokban (Bürk, 1968). Különböző sejtvonalak sejttejének osztódását a cAMP gátolja (Ryan és mts., 1968; Perkins és mts., 1971). Hasonló hatása van a dibutiril cAMP-nek is, amely Hsie és Puck, (1971), valamint Hsie, Jones és Puck (1971) adatai szerint a kínai hőrcsögből származó petefészek sejtek kontakt inhibícióját visszaállítja. Amióta ismertté vált, hogy a cAMP-nek nemcsak a hormontermelésben, hanem a sejtek osztódásának a szabályozásában is fontos szerepe van, az egér mellékvese tumorból kialakított sejttenyészetek új jelentőséget kaptak. Ez az egyetlen olyan in vitro rendszer ugyanis, amelyben a sejtek specifikus funkcióját és szaporodását ugyanaz az intracelluláris molekula, a cAMP szabályozza. Masui és Garren (1971) kimutatták, hogy ha e sejttenyészetekhez ACTH-t adtak, a sejtekben a cAMP mennyisége 30–60 perc alatt maximumot ért el, ugyanakkor csökkent a sejtek H3-timidin beépítése a DNS molekulába. ACTH adás után 14 órával már 90% gátlást találtak. A hormon szintézise ezalatt fokozatosan nőtt és a 24. órában maximumot ért el. Mivel e tenyészetek funkcionálisan eltérnek a normál mellékveséktől, a kapott eredmények nem vagy csak korlátozott mértékben adhatnak felvilágosítást a normál mellékvese sejtek hormontermeléséről és szaporodásukról. A normál patkány mellékvesékből kialakított proliferáló és hormontermelő sejttenyészeink véleményünk szerint olyan modell-rendszerek, amelyekben a normál mellékvese sejtek hormontermelését, továbbá e sejtek szaporodása és specifikus funkciója közötti összefüggéseket vizsgálni lehet.

Jelen eredményeink alapján arra a kérdésre, hogy a proliferáló és hormont termelő sejttenyészeinkben a sejtosztódás és a hormon szintézis egy sejten belül azonos időben folyhat-e, nem tudunk válaszolni. Óvatos következtetésre azonban az alábbiakban felsorolandó tények alapján lehetőségünk van. Yasamura és mts. (1966) közölték elsőként hogy az egér mellékvese tumorból kialakított sejttenyészetben ACTH adás után 30 perccel a populáció sejttei lekerekedtek. Masui és Garren (1971) biokémiai vizsgálatai szerint erre az időre a sejtekben a cAMP koncentrációja a maximumot éri el. O'Hare

és Neville hasonló megfigyelést tettek felnőtt patkányok mellékveséiből kialakított mitotikusan inaktív tenyészetekben (1973). Véleményük szerint az ACTH hatására bekövetkező morfológiai változás egyenes összefüggésben van az ACTH-nak a membránban levő adenil cikláza kifejtett aktiváló hatásával, melynek eredményeként a sejten belüli cAMP mennyisége nő. Ha ugyanis cAMP-t adtak a tenyészetekhez, e morfológiai változás még kifejezettebb volt. A maximális hatás kialakulásához vizsgálataik szerint 4–5 napra volt szükség. Minthogy a mellékvese sejtekben a cAMP mennyiségének növekedése a szteroidogenezis első fontos lépése, ezért az ACTH hatására bekövetkező változás joggal tartható a sejtek funkcionális aktivitása morfológiai jelének. Monolayer tenyészetekben nemcsak a mellékvese sejtjei, de pl. a hipofízisből készített sejtenyészetek sejtjei is megváltoztatják alakjukat, ha a tápfolyadékba specifikus riliz anyagokat, vagy pl. prosztaglandint teszünk. Biológiai mérések alapján az ilyen tenyészetek sejtjei a morfológiai változással párhuzamosan a riliz faktorra specifikus trofhorment termelnek (Vale és mts., 1972). Mellékvese tenyészetekben ACTH kezelés után a populáció sejtjeinek egy csoportja teljesen lekerekedett, más sejtek változatlanok maradtak. A kétféle sejt típus között több átmeneti alakot lehetett megfigyelni. A teljes hatás kialakulásához 4–5 napra volt szükség. A jelenség reverzibilis volt. Ha e sejtek összehúzódsát az ACTH-ra bekövetkező sztereoidogenetikus aktivitás első lépésének tekintjük, meg kell állapítanunk, hogy a populáció nem minden sejtje egyidőben kezdi el a hormon szintézisét. Alátámasztja ezt az a megfigyelésünk is, hogy az ACTH hatására bekövetkező finomszerkezeti változások, amelyek a sejtek hormonális funkcióival szoros összefüggésben vannak, a populáció sejtjeinek csak 25–30%-ában volt megfigyelhető.

Miért nem hatott az ACTH a populáció minden sejtjére? Feltételezésünk szerint a morfológiai változást nem mutató sejtek membránja az adott időben érzéketlen volt az ACTH-ra. Ha ez igaz, úgy ezekben a sejtekben az intracelluláris cAMP mennyisége is változatlan maradt, ami elvileg kedvező a sejtek DNS szintézisének megindulásához. Vagyis a populáció azon sejtjei, amelyek ACTH-ra nem változtatják meg alakjukat, véleményünk szerint a DNS szintézis fázisában lehetnek.

Tenyészetekben tehát az osztódás és a hormontermelés egyidőben, de különböző sejtekben történik. Alátámasztja ezt az is, hogy — szemben az egér mellékvese tumorból kialakított sejtenyészetekkel — felnőtt patkányok mellékveséiből készített anyadarabos tenyészetekben (Armato és mts., 1972) ACTH adás után a sejtek jelzőési indexe az első 48 órában a kontrollhoz viszonyítva ugyan nőtt, de a 72. órától a kontrollal azonos értéket mutatott, folyamatos ACTH kezelés esetén is. Arra vonatkozóan, hogy a szövettényészetekben folyamatosan osztódó ún. transzformálódott sejtek membránja eltér a nem osztódó sejtektől, ismertek adatok az irodalomban (Fox és mts., 1971). A nem transzformált sejteknek viszont csak a mitózis alatt változik meg a sejtmembránja (Fox és mts., 1971). Sejtpopulációnk nem transzformált populáció, amelyben a sejtek osztódása mellett hormontermelés is folyt. Ha az elmondottak alapján feltételezzük, hogy a populáció minden sejtje mitotikusan aktív és hormont is szintetizál, akkor ez állandó ACTH árnyékban csak akkor lehetséges, ha a sejtciklusba lépő sejtek membránja átmenetileg érzéketlenné válik az ACTH-val szemben, azaz az ACTH receptorok blokkolódnak. További vizsgálataink e kérdéssel kapcsolatban folynak.

Összefoglalás

300–400 g-os patkányok tripszinnel izolált mellékvesekéreg sejtjeiből proliferáló és kortikosteront termelő primer monolayer tenyészetek alakultak ki. A kiindulási sejtszuszpenzióban 1,06%, a nyolcnapos tenyészetekben 8,5% volt a triciált timidint beépítő sejtek aránya, ami arra utal, hogy a tenyésztési körülmények kedvezően befolyásolták a sejteknek a sejtciklusba való belépését. ACTH nélkül csekély mértékű, ACTH jelenlétében pedig tekintélyes mennyiségű kortikosteront tartalmazott a kultúrák tápfolyadéka. A sejtek egyes organellumainak (mitokondriumok, endoplazmás retikulum) finomszerkezete a tenyésztés folyamán átalakult, ACTH adás után azonban az organellumok a kiindulási sejtszuszpenzió organellumaival csaknem azonos szerkezetűek voltak, ami arra enged következtetni, hogy az ACTH trofikus hatása a felnőtt patkány tenyésztett sejtjein is érvényesül.

IRODALOM

1. ARMATO, U. and NUSSDORFER, G. G. (1972): Tissue culture of rat adult decapsulated adrenal glands. *Z. Zellforsch.*, **135**, 245–273.
2. BURGER, M. M. (1970): Proteolytic enzymes initiating cell division and escape from contact inhibition on growth. *Nature*, **227**, 170.
3. BÜRK, R. R. (1968): Reduced adenyl cyclase activity in a polyoma virus transformed cell line. *Nature*, **219**, 1272–1275.
4. CAMERON, I. L. (1970): Cell renewal in the organs and tissues of the nongrowing adult mouse. *Texas Rep. Biol. Med.*, **28**, 203–248.
5. EPIFANOVA, O. I., TERSKIKH, V. V. (1969): On the resting periods in the cell life cycle. *Cell Tissue Kinet.*, **2**, 75–93.
6. FOX, T. O., SHEPPARD J. R. and BURGER, M. M. (1971): Cyclic membrane changes in animal cells: transformed cells permanently display a surface architecture Detected in normal cells only during mitosis. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **68**, 244–247.
7. GARREN, L. D., GILL, G. N., MASUI, H. and WALTON, G. M. (1971): Recent Progr. Hormone Res., **27**, 433.
8. GUILLEMIN, R., CLAYTON, G. W., LIPSCOMB, H. S. and DMITH, J. D. (1959): Fluorometric measurement of rat plasma and adrenal corticosterone concentration. *J. Lab. Clin. Med.*, **53**, 830–832.
9. GYÉVAI A. (1972): Felnőtt állatok szöveteinek növekedése primer tenyészetekben. *Biol. Közl.*, **20**, 33–38.
10. GYÉVAI, A., BUKULYA, B., MIHÁLY, K., SZALAY, K. and STARK, D. (1972): Fine structure and hormonal activity of intact and cultured embryonic adrenal cells of different species. *Symp. Biol. Hung.*, **14**, 73–88.
11. HALKERSTON, I. D. K., FEINSTEIN, M. and HECHTER, O. (1968): Effect of lytic enzymes upon the responsivity of rat adrenals in vitro. I. Effect of trypsin upon the steroidogenic action of reduced triphosphopyridine nucleotide. *Endocrinology*, **83**, 61–73.
12. O'HARE, M. J. and NEVILLE, A. M. (1973a): Morphological responses to corticotrophin and cyclic AMP by adult rat adrenocortical cells in monolayer culture. *J. Endocr.*, **56**, 529–536.
13. O'HARE, M. J. and NEVILLE, A. M. (1973b): The steroidogenic response of adult rat adrenocortical cells in monolayer culture. *J. Endocr.*, **56**, 538–549.
14. HSIE, A. W. and PUCK, T. T. (1971): Morphological transformation of chinese hamster cells by dibutyl adenosine cyclic 3'5'-monophosphate and testosterone. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **68**, 358–361.
15. HSIE, A. W., JONES, C. and PUCK, T. T. (1971): Further changes in differentiation state accompanying the conversion of chinese hamster cells to fibroblastic form by dibutyl adenosine cyclic 3'5'-monophosphate and hormones. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **68**, 1648–1652.

16. KAHRI, A. (1966): Histochemical and electron microscopic studies on the cells of the rat adrenal cortex in tissue culture. *Acta endocr.* (Copenh.), **52**, Suppl. 108.
17. KLOPPENBORG, P. W. C., ISLAND, D. P., LIDDLE, G. W., MICHELAKIS, A. M. and NICHOLSON, W. E. (1968): A method of preparing adrenal cell suspensions and its applicability to the in vitro study of adrenal metabolism. *Endocrinology*, **82**, 1053—1058.
18. KOWAL, J. (1970): ACTH and metabolism of adrenal cell cultures. Recent Progress in Hormone Research. Ed. E. B. Astwood Vol. 26. Academic Press, New York and London, 623—676.
19. MASUI, H. and GARREN, L. D. (1971): Inhibition of replication in functional mouse adrenal tumor cells by adrenocorticotrophic hormone mediated by adenosine 3'5'-cyclic monophosphate. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **68**, 3206—3210.
20. MILNER, A. J. and VILLEE, D. B. (1970): Steroidogenic and morphologic effects of ACTH on foetal adrenal cells grown in tissue culture. *Endocrinology*, **87**, 596.
21. NEY, R. L. (1969): Effects of dibutyryl cyclic AMP on adrenal growth and steroidogenic capacity. *Endocrinology*, **84**, 168—170.
22. PERKINS, J. P. and MACINTYRE, E. H. (1971): The effect of dibutyryl cyclic AMP on the growth and morphology of human astrocytoma cells in culture. *Fed. Proc.*, **30**, 1097.
23. ROBISON, G. A., BUTCHER, R. W. and SUTHERLAND, E. W. (1968): *Ann. Rev. Biochem.*, **37**, 149.
24. RYAN, L. and HEIDRICH, M. L. (1968): Inhibition of cell growth in vitro by adenosine 3'5'-monophosphate. *Science*, **162**, 1484—1485.
25. SEFTON, B. M., RUBIN, H. (1970): Release from density dependent growth inhibition by proteolytic enzymes. *Nature*, **227**, 843.
26. SEKI, M., SEKIYAMA, S., MIYAHARA, H. and ICHII, S. (1969): Studies on regenerating adrenal cortex 2. Autoradiographic and electron microscopic observations. *Endocrinol. Japon*, **16**, 361—377.
27. SIMMS, H. S., STILLMANN, N. P. (1937): Substances affecting adult tissue in vitro. I. The stimulating action of trypsin of fresh adult tissue. *J. Gen. Physiol.*, **20**, 503—619.
28. SIMMS, H. S., STILLMANN, N. P. (1937): Substances affecting adult tissue in vitro. II. Growth inhibitor in adult tissue. *J. Gen. Physiol.*, **20**, 621—629.
29. STARK, E., FACHET, J. and Mihály, K. (1963): Pituitary and adrenal responsiveness in rats after prolonged treatment with ACTH. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **41**, 1771—1777.
30. SWALLOW, R. L. and SAYERS, G. (1969): A technic for the preparation of isolated rat adrenal cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **131**, 1—4.
31. TROWELL, O. A. (1959): The culture of mature organs in a synthetic medium. *Exp. Cell Res.*, **16**, 118—147.
32. YASUMURA, Y., BUONASSISI, V. and SATO, G. (1966): Clonal analysis of differentiated function in animal cell cultures. I. Possible correlated maintenance of differentiated function and the diploid karyotype. *Cancer Research*, **1**, 529—535.
33. VALE, W., GRANT, G., AMOSS, M., BLACKWELL, R. and GUILLEMIN, R. (1972): Culture of enzymatically dispersed anterior pituitary cells: functional validation of a method. *Endocrinology*, **91**, 562—572.

ВЫРАБОТКА ГОРМОНА И ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ НАДПОЧЕЧНИКА ВЗРОСЛЫХ КРЫС

А. Дьеван, Дб. Раппаи, Л. Кондич и Е. Штарк

Из изолированных трипсином клеток коры надпочечников крыс весом 300—400 гр образуются однослойные тканевые культуры, которые пролиферируются и вырабатывают кортикостерон. Клетки, инкорпорирующие тимидин, меченный тритием, содержались в 1,06% в исходной суспензии клеток, и в 8,5% восьмидневной культуре. Это указывает на то, что условия культивирования благоприятствовали на вступление клеток в цикл. Питательная жидкость тканевой культуры без АКТГ содержала небольшое количество кортикостерона, а в присутствии АКТГ его количество было значительным.

Ультраструктура некоторых органелл (митохондрии эндоплазматическая сеть) клеток переорганизовались в течение культивирования, а после прибавления АКТГ структура их стала похожей на ультраструктуру органелл клеток исходной суспензии. Это указывает на то, что трофическое действие АКТГ проявляется на культивированных клетках коры надпочечников и у взрослых крыс.

HORMONE PRODUCTION AND CELL DIVISION OF ADRENAL CELLS FROM ADULT RATS IN CELL CULTURE

A. Gyévai, Gy. Rappay, L. Kondics and E. Stark

Adrenocortical cells of rats of 300—400 g body weight were isolated by trypsin. The cells formed proliferating and corticosteron producing primary monolayer cultures. In the starting cell suspension 1.06% of the cells, in the 8 days old cultures 8.5% of the cells took up tritiated thymidine suggesting that the parameters of cultivation influenced favourably the entering of cells into the cell cycle.

In the presence of ACTH culture medium contained considerable amount of corticosterone, however without ACTH its quantity was small. The fine structure of certain cell organelles (mitochondria, endoplasmatic reticulum) underwent a transformation during the cultivation but after ACTH administration the organelles had almost the same structure in comparison with those of the starting cell suspension. This suggests that trophic effect of ACTH also asserts itself in the cultivated cells of adult rats.

TENGERIMALACBA IMPLANTÁLT HOMOLÓG THYMUS ÉS THYMUS SEJTSZUSZPENZIÓ VISELKEDÉSE

TÖRÖK OTTILIA és CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1973. november 19-én

A homo- és heterotranszplantátumok sorsának alakulásában nemcsak az immunreakció játszik szerepet — bár ennek fontossága elsőrendű —, hanem egyéb tényezők is. Így amennyiben nem éregyesítéssel történt a teljes szerv-átültetés, hanem szervdarabkák kerülnek implantációra, a traumatizáció mértéke is nagyon fontos lehet. Még jelentősebb az, hogy az átültetett szövet tud-e asszimilálódni, adaptálódni idegen miliőben, fel tudja-e használni az ott rendelkezésre álló fehérjéket tápanyagként. Mindezen tényezők hasznosságára rámutattak Csaba és munkatársai (1—5) mintegy 11 évvel ezelőtt, amikor felállították a heterotranszplantáció sorsának három fázisáról alkotott teóriájukat. Az immunrendszer elsődlegességét bizonyító kísérletek térhódítása e megfontolásokat háttérbe szorította egészen a legújabb időkig, amikor is Summerlin (6) kimutatta, hogy szövettenyészetben tartott sejtek homológ és heterológ átültetése minden immun szuppresszió nélkül sikeres lehet még emberi vonatkozásban is. Az említett kísérletek alapján fontosnak látszanék tudni, hogy mi a különbség a közvetlenül szöveti kötelékben, izoláltan, illetve tenyésztés után átültetett azonos szerv sejtjeinek viselkedése között, illetőleg a dedifferenciáció milyen mértéke az, amely a reorganizációt még megengedi.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz donorként tengerimalac embryo és újszülött thymusát, recipiensként 80—200 gr-os tengerimalacokat használtunk. A donor állatok thymusát Tyrode-oldatban darabokra vágtuk, majd a Nembutallal altatott állatok egyik veséjébe a tok alá két darabkát helyeztünk (13 állatba). A donor állatok másik csoportjának thymusát 0,25%-os tripszinnel (Difco 1 : 250) disszociáltuk, kb. 0,15—0,20 ml sejtuszuspenziót (2 000 000 pro ml.) injiciáltunk az egyik vese tokja alá, illetve a tripszinizált sejteket Belco-csőben 16—20 napig tenyésztettük Parker 199 és borjúsavó 9 : 1 arányú keverékében, és ez után ültettük a vese tokja alá (15 állat). Az utóbbi csoporton belül 8 állatba primer sejtuszuspenziót, 7 állatba pedig kultivált thymus tenyészet sejtjeit ültettük.

A recipiens állatokból az implantációt követő 3., 5., 7., 9., 10., 11., 12. napon a vesét Carnoy-oldatban fixáltuk, majd paraffinba ágyaztuk. A 6—7

mikronos sorozatmetszeteket, illetve a megfelelő időpontokban rögzített kultúrákat haematoxinil-eosinnal festettük meg.

Eredmények

I. Implantált embryonális thymus (1. sz. tábla). A vesetok alá implantált embryonális thymusban 3 nap múlva piknotikus magvú sejtek látszóttak. A thymus területén elszórtan sokmagvú sejtek jelentek meg. Az implantáció után az 5. naptól a thymocyta-k száma csökkent és jobban láthatók a retikulum sejtek, lazán vagy csoportokba tömörülve, vagy szabályos Hassall-testet alkotva. A 9. napon még igen jól megtartott a thymus szerkezete.

II. Implantált újszülött thymus. (2. sz. tábla). Már az implantációt követő harmadik napon sok, szarulemezeket tartalmazó Hassall-test figyelhető meg. Foltokban még elég sok a thymocyta. Ugyanakkor már feltűnőek a Hassall-testek között található sokmagvú sejtek (synplasma). Ezekben a sejtekben az egyforma sejtmagok diffúzan az egész cytoplazmában helyezkednek el. A 3. naptól a thymocyta kiürülés fokozódik, a sokmagvú sejtek száma nő, és fokozottabb a Hassall-testekben a keratinizáció. Több retikulum sejt mitózisban van.

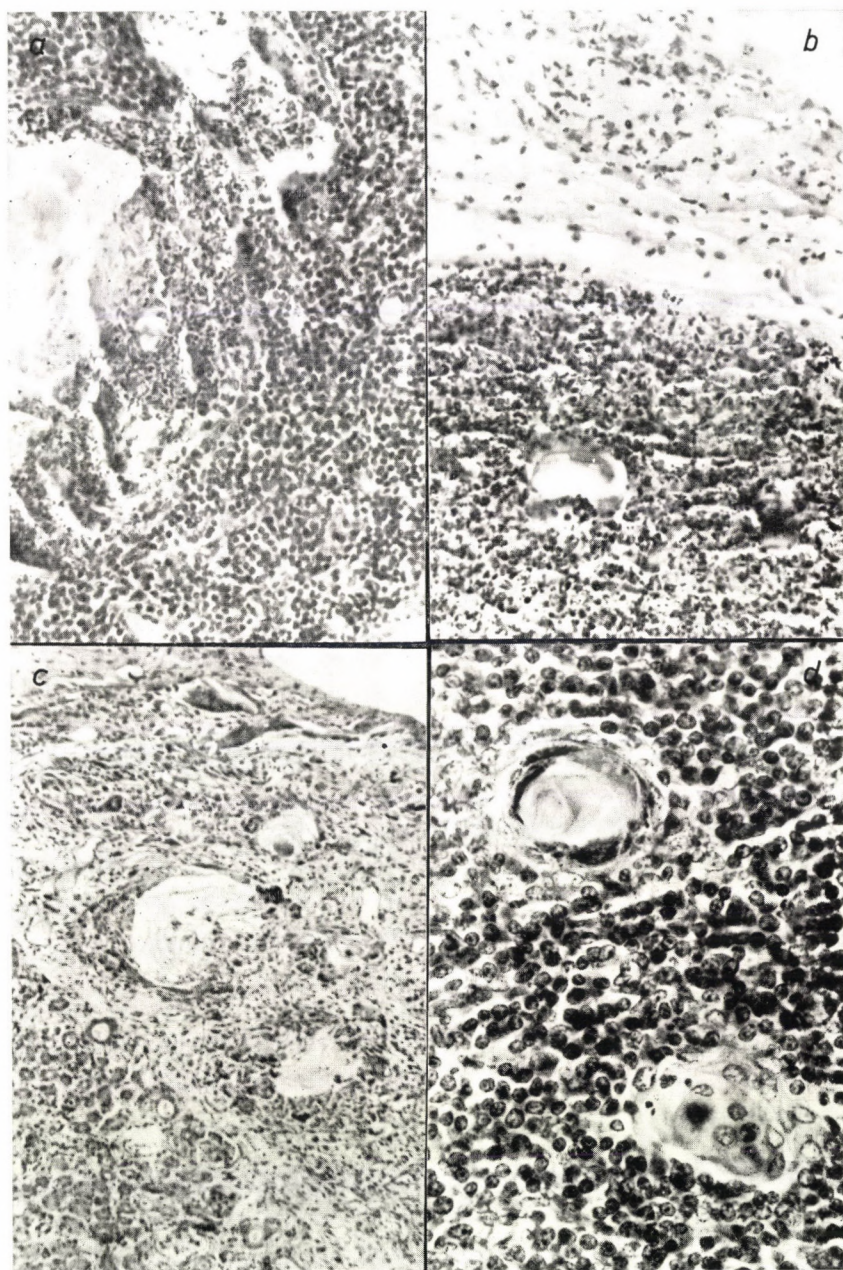
III. Primer thymussejt szuszpenzió. (3. sz. tábla). Az injiciálás 3. napján jól láthatók a vesetok alatt a disszociált retikulum sejtek és a thymocyta-k, rendezetlenül. Az 5. napon a thymocyta-k száma jelentősen csökkent, vagy más sejttípussá transzformálódtak, s a retikulum sejtek kisebb-nagyobb csoportokba tömörülése figyelhető meg. A sorozatmetszetek áttekintése alapján kitűnt, hogy ezekben a sejtcsoportosulásokban lumen helyezkedik el. Ezeknek a tubulusoknak a száma a 7. napon fokozódik s a 10. napon éri el a maximumát.

Az *in vitro* tenyésztett thymus sejtek — tehát amelyek nem lettek a vesetok alá ültetve — a kiültetés után közvetlenül lekerekedtek, helyenként csoportokat alkottak. (4. sz. ábra). 3 nap múlva a hám- és kötőszöveti sejtek között lymphoid elemek is megfigyelhetők voltak. A 6. napra a lymphoid elemek eltűntek, a sejtek lemezsszerűen összekapcsolódtak. A 10. napon a kép az előbbihez hasonló, a növekedési zóna nagyobb.

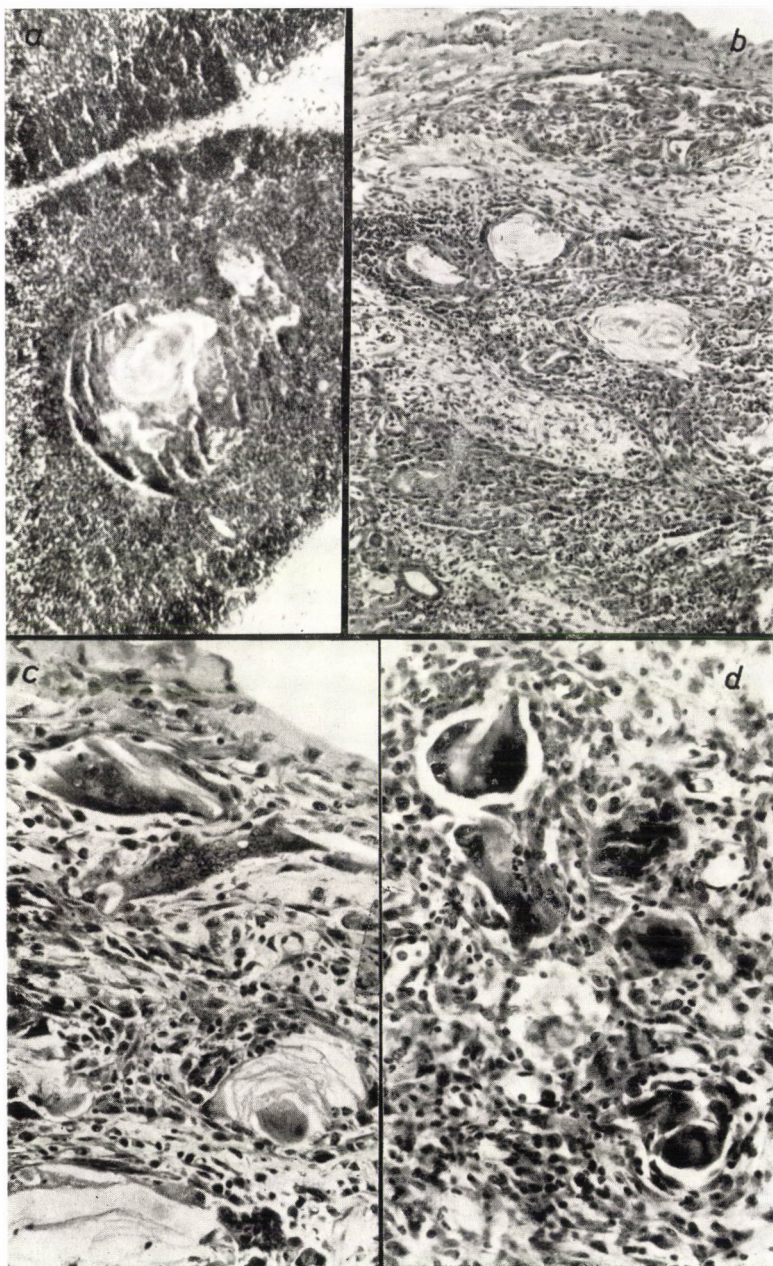
IV. Kultivált thymussejtszuszenzió. (5. sz. tábla). A szubkultivált thymussejt szuszpenzió sejtjei diffúzan maradtak a vese tokja alatt. Csak a 9. napon jelentkezett tubuláris organizáció. Az injiciálás után az idő előrehaladtával a sejtek részben elpusztultak.

Megvitatás

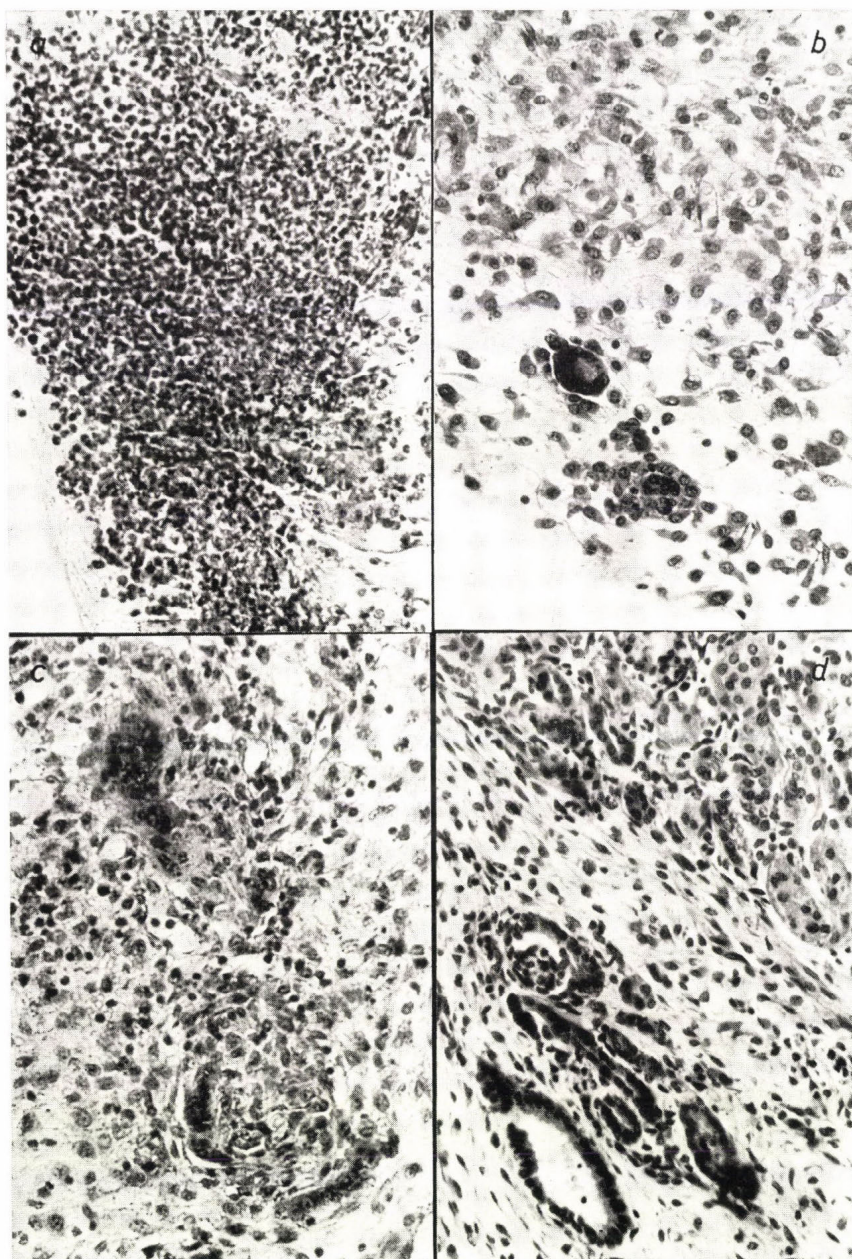
Megfigyeléseinkből megállapítható, hogy az implantált embryonális és újszülött thymus szerkezete hasonlóan változott. Az embryonális thymusban bár csökkent a thymocyta-k száma, a thymusra jellemző alapvető szerkezet nem változott. Az implantált újszülött thymuszban a morphologiai kép változása sokkal feltűnőbb azáltal, hogy már a 3. napon sokmagvú óriássejtek jelentek meg nagyobb számban és a megfigyelés időtartama alatt számuk



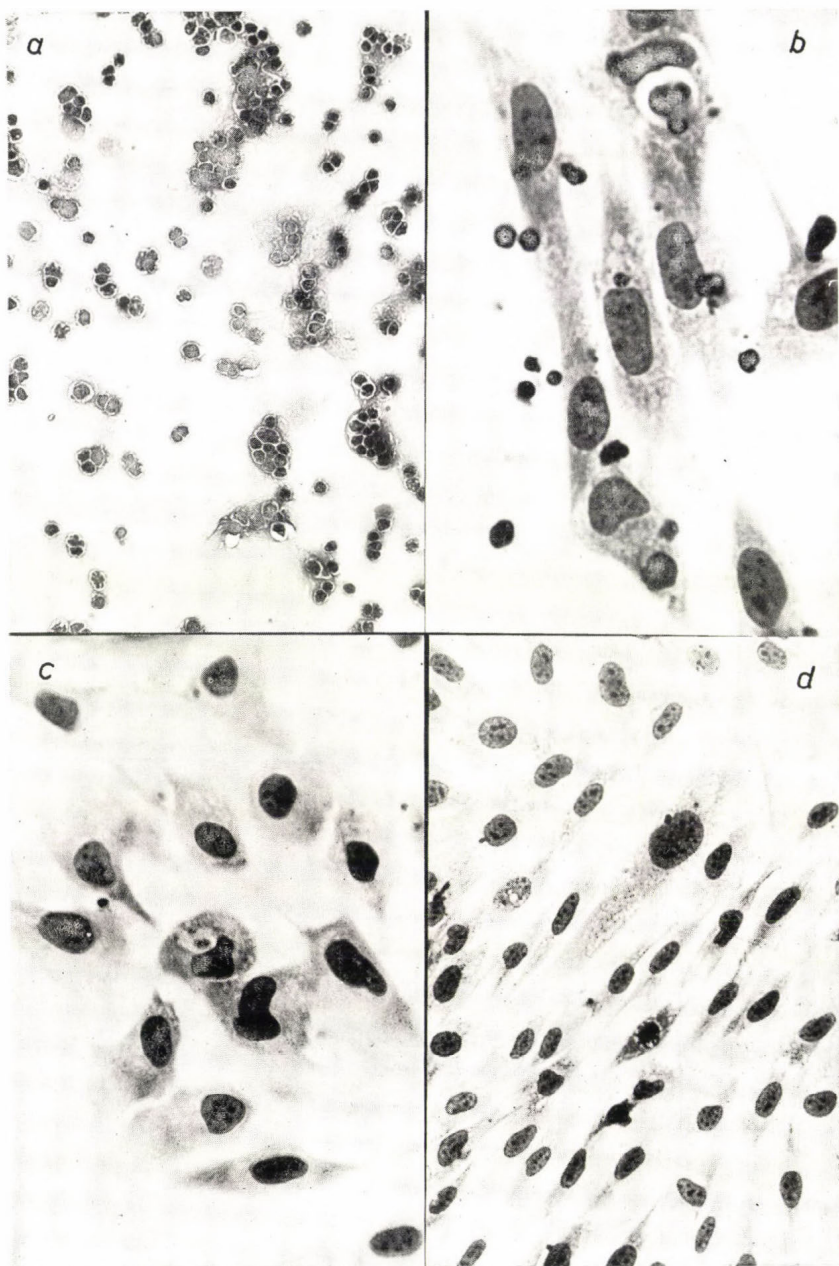
1. tábla. Vese tok alá implantált embryonális thymus darabka sorsa,
a) Beültetés előtt, $200\times$. *b)*, *c)* 3 napos, $80\times$. *d)* 9 napos, $320\times$.
 A struktúra teljesen ép



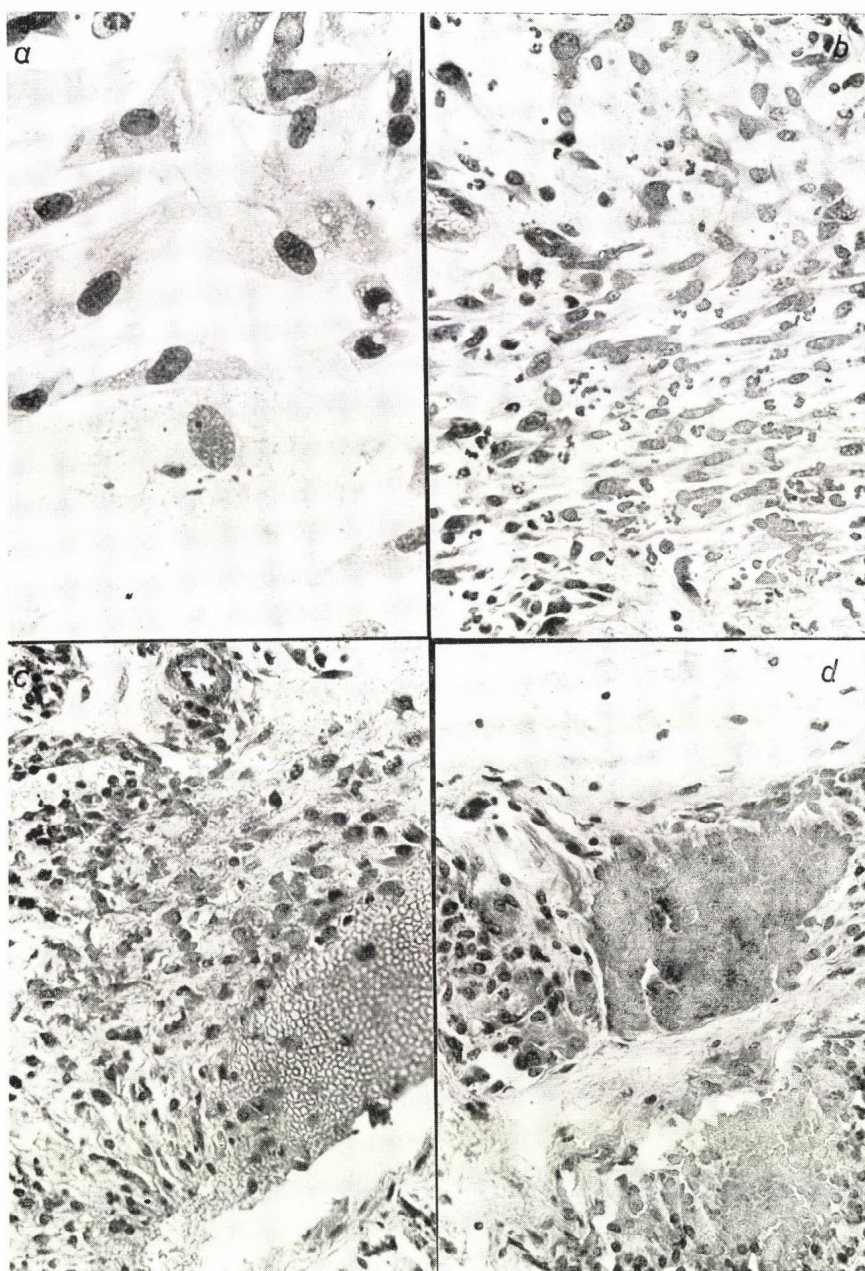
2. tábla. Vese tok alá implantált újszülött thymus darabka sorsa.
 a) Beültetés előtt, $80\times$. b), c) 3 napos, a destrukció megindult, $80\times$, $320\times$.
 d) 7 napos, a destrukció fokozódik, óriássejtek, $320\times$



3. tábla. Primer thymus-sejt szuszpenzió implantáció a vese tokja alá.
a) Az egymás mellé került sejtek halmaza. $80\times$. b), c) 5 napos. A reorganizáció megkezdődött. $80\times$. d) Erőteljes reorganizáció, hámcsővek kialakulása. $80\times$



4. tábla. A trypsinizált sejtek in vitro tenyésztése.
a) 0 órá. Izolálódott, lekerekedett sejtek és sejtesoportok. 200 \times .
b) 3 napos. Vitalis elnyúlt sejtek. Detritus fagocitózis. 250 \times .
c) 6 napos. Megkezdődött a lemezszerű növekedés. 160 \times .
d) 10 napos, lemezszerű növekedés 100 \times .



5. tábla. A tenyésztett thymus sejtek a vese tokja alatt.

a) implantáció előtt, 19 napos tenyészet, 250 \times .

b) 3 napos implantátum, rendezetlen sejttömeg, 200 \times .

c) 5 napos, rendezetlen sejttömeg, 200 \times .

d) 12 napos, kezdeti reorganizációs tendencia, 200 \times .

fokozódott. A Hassal-testek szarulemezeket tartalmazó típusa egyre több területen figyelhető meg. Feltételezhető, hogy a környezet keratinizációt fokozó hatásáról van szó.

Összehasonlítva a primaer és a kultivált thymus sejtszuspenzió sejtjeinek sorsát, lényeges különbség mutatkozik. Míg a primaer sejtszuspenzió sejtjei vitálisabbak, tubuláris organizációra képesek bizonyos retikulum sejtek már 5 nap múlva, a szubkultivált sejtek csak a 12. napon mutatnak hasonló tömörülést. Feltételezhető, hogy a tripszin hatására olyan átalakulás történik a reticulumsejtben, membránjában, vagy az external coatjában, aminek következtében a sejtek egymáshoz kapcsolódása gátolt. A primer kultúra in vivo organizációja sokkal kifejezettebb volt, mint in vitro körülmények között.

A transzplantáció szemszögéből vizsgálva a kérdést, úgy tűnik, hogy az ontogenetikailag fiatal — embryonális és újszülött — thymusdarabkák is jól transzplantálhatók. Mégis míg az embryonális thymus struktúrája a vizsgálati időtartam végéig teljesen megtartott volt, addig az újszülött transzplantátum destrukciója már a 3. napon megkezdődött. Az izolált sejtek átültetése még kecsegtetőbb: a reorganizáció egy olyan időpontban figyelhető meg legkifejezettebben, amikor az immunreakció már intensív kellett, hogy legyen. Ugyanakkor a histoid módon tenyésztett sejtek átültetésekor észleltek figyelmeztetnek arra, hogy egyrészt a túlságos dedifferenciálódás az organizáltság ellen dolgozik, és ez a funkció elvesztésével és a transzplantátum felszívódásával járhat, másrészt, hogy a sejtek izolálódása egymagában is jár annyi dedifferenciálódással, ami a transzplantátum megtapadását és életbenmaradását elősegíti.

Összefoglalás

A tengerimalac vesetokja alá implantált thymus darabka és sejtszuspenzió egyaránt életben maradt a 12. napig. Az embryonális thymus igen vitális volt, míg az újszülött thymus destrukciója már a 3. napon megkezdődött, bár nem fejeződött be a 12. napig. A thymus sejtszuspenzió organizációja hamar megkezdődött, és zavartalanul folytatódott, míg a kultivált sejtek életképessége és organizációja csökkent mértékű volt. Ez arra utal, hogy már a sejtizoláció révén fellépő dedifferenciálódás is segíti a transzplantátum megtapadását, ugyanakkor a túlzott dedifferenciálódás ennek ellene hat.

IRODALOM

- CSABA G. (1956) Three phase in the life of heterotransplants. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **6**, 361—364.
- CSABA G., ISKUM M. (1958) Heterotransplantation von Milzgewebe nach vorangehender Adaptation in der Gewebekultur. *Acta morph. Acad. Sci. hung.*, **8**, 71—76.
- CSABA G., HEGYI K. Cs. (1958) Behaviour of phylogenetically and ontogenetically different tissues in tissue cultures, explanted on autologous and heterologous media. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **8**, 149—164.
- CSABA G. (1958) Die Rolle der Assimilations-Adaptationsfaktoren in der Entwicklung von Heterotransplantaten. *Virchows Arch. path. Anat.*, **331**, 653—665.
- CSABA G., HEGYI K. Cs., ISKUM M. (1958) Liver heterotransplantation experiments. Test

- of the three phase theory on different tissues of the same organ. *Acta morph. Acad. Sci. hung.*, **8**, 279—286.
- SUMMERLIN T. (1973) In.: MAUGH T. H.: Tissue cultures: Transplantation without immune suppression. *Science*, **181**, 929—931.

ПОВЕДЕНИЕ ГОМОЛОГНОГО ТИМУСА И СУСПЕНЗИИ КЛЕТОК ТИМУСА, ИМПЛАНТИРОВАННЫХ В МОРСКУЮ СВИНКУ

О. Тёрёк, Дь. Чаба

Кусочек тимуса и суспензия его клеток, имплантированные под капсулу почки, остаются живым в течение двенадцати дней. Витальность эмбрионального тимуса выраженнее, чем новорожденного, деструкция последнего началась на третий день, но не закончилась до двенадцатого дня. Организация суспензии клеток тимуса началась рано и продолжалась без препятствия, а жизнеспособность и организация культивированных клеток были менее выражены. Это показывает, что дедифференцировка, возникающая в течение изоляции клеток, способствует приживанию трансплантата, но чрезмерная дедифференцировка действует в противоположном направлении.

CHARACTERISTICS OF HOMOLOG THYMUS AND THYMUS CELL SUSPENSION IMPLANTED IN GUINEA PIG

O. Török and Gy. Csaba

A piece of thymus as well as suspension of thymus cells implanted under the kidney capsule of guinea pig were alive to the 12th day.

While the destruction of newborn thymus had already started on the 3rd day, although the destruction had not been completed on the 12th day, the embryonal thymus showed high vitality. The organization of thymus cell suspension started soon and went on undisturbedly. On the other hand the vitality and organization of cultivated cells decreased. These led to the conclusion that the dedifferentiation appearing because of cell isolation promotes adherence of transplantatum however extreme dedifferentiation counteracts the adherence of transplantation.

MEGFIGYELÉSEK EGÉR THYMUS MELLÉKVESÉVEL KONFRONTÁLT SZÖVET- ÉS SZERVTENYÉSZETEIN

TÖRÖK OTTILIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1973. november 25-én

Bevezetés

A thymus és a mellékvese *in vivo* kapcsolatát számos szerző tanulmányozta különböző emlős fajokon, többféle kísérleti módszer alkalmazásával. A thymusban bekövetkező változásokat részint adrenektomia után, részint kéregszteroidok, továbbá ACTH adását követően vizsgálták. A vizsgálatok eredményeként változásokat írtak le a thymus morfológiájában, savas és alkalikus foszfatáze aktivitásában, glikogén tartalmában, DNS és fehérjeszintézisének mértékében, valamint mitotikus aktivitásában (1, 6, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 24, 25, 29, 33, 34, 36, 43, 44, 45, 60, 63, 81, 82).

A hormontermelő szervek működésének és kölcsönös kapcsolatainak tanulmányozásában az utóbbi időben egyre nagyobb jelentősége van a szövetszervtenyésztetek alkalmazásának. A thymus morfogenezisének és fenntarthatóságát szervtenyésztetben több szerző vizsgálta (2, 4, 5, 7, 10, 62, 77, 79). Vannak adatok számos szteroidnak szervtenyésztetben tartott egér thymusra kifejtett hatásairól is (69). Más szerzők implantáció körülményei között tanulmányozták a thymus viselkedését (3, 21, 68, 74, 78).

A mellékvese tenyésztésére vonatkozóan is vannak irodalmi adatok (8, 23, 38, 39, 40, 41, 42, 47, 48, 50, 51, 61, 65, 66, 70, 71), ugyanakkor e két szerv viselkedését konfrontált tenyésztés feltételei között még nem tanulmányozták. Jelen vizsgálataink során konfrontált szövet- és szervtenyésztetben egér embrió thymusának és ivarérett egér mellékveséjének kölcsönhatásait tanulmányoztuk a következő szempontok alapján: 1. Milyen a szövetszervtenyésztetbe explantált embrionális thymus és az ivarérett állat mellékveséjének növekedése külön-külön és konfrontáltan tenyésztve; 2. milyen a növekedési zónák morfológiája, milyen sejttípusok találhatók bennük; 3. milyen morfológiai, közelebbről citológiai változások következnek be a szervtenyésztetben tartott thymusban, ha azt izoláltan, illetve mellékvesével együtt tenyésztjük; hogyan változik a thymus reticulumsejtjeinek és thymocytáinak viselkedése; megfigyelhető-e a reticulum-sejtek valamilyen szekréciós tevékenysége; láthatók-e a reticulum-sejtekben fagocitózisra utaló jelek?

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz a C57 Black egér törzset használtuk. A thymusokat 65 db. (17—20 napos) embrióból, 14 újszülöttből, továbbá 11 1—16 napos állatból vettük ki, míg a mellékveséket 44 ivarérett, hím állatból nyertük.

A szerveket steril körülmények között operáltuk ki, majd Tyrode-oldatba tettük, ebben átmostuk és feldaraboltuk. Szövettenyészetek céljára mindkét szervből megfelelő méretű darabokat készítettünk, míg a szervtenyészetek készítéséhez fél thymusokat és egészben hagyott mellékveséket használtunk fel. Utóbbiaknál a darabolást azért mellőztük, hogy a szerv mechanikai traumás károsodását elkerüljük.

Az explantálást a következő módon végeztük:

1. Csőkultúrák esetében a thymus és mellékvese darabokat csillámlemezsre, koagulált kakas-plazma és csirkeembrió extractum 1:1 arányú keverékére explantáltuk részint külön-külön, részint konfrontáltan, majd a lemezeket H-csőbe tettük. A thymusból 20, a mellékvesével konfrontált thymusból 22, a mellékveséből pedig 8 csőkultúrát készítettünk.

2. A szervtenyészeteket a CHEN-féle technika szerint (11) készítettük úgy, hogy a tenyészetekben külön-külön, illetve konfrontáltan fél thymust és egész mellékvesét tartottunk fenn. Összesen 10 thymus, 30 thymus és mellékvese és 2 mellékvese szervtenyészetet készítettünk.

Szövettenyészetek esetében az alkalmazott tápfolyadékok összetétele a következő volt: a) Parker 199 és lósavó 9:1 arányban, b) Hanks-ben oldott 0,5%-os laktalbuminhidrolizátum és lósavó 9:1 arányban; mindkét oldathoz ml-ként 200 IU penicillint adtunk.

A szervtenyészetekhez használt folyékony medium összetétele: lósavó és csirke-embrió extraktum 1:1 arányú keveréke, mely 200 IU penicillint tartalmazott ml-enként. A szövettenyészetek mediumát hetenként háromszor, a szervtenyészetekét hetenként kétszer cseréltük. A szövettenyészeteket 12 napon át tartottuk fenn, miközben belőlük minden nap methanolban fixált és May—Grünwald—Giemsa-val festett preparátumokat készítettünk. A plasma-clottra explantált darabokból néhányat a tenyésztés 4. és 7. napján kiemeltünk és ezeket Carnoy-fixálás után parafinba ágyasztuk. A visszamaradt növekedési zónát a többi szövettenyészethez hasonlóan fixáltuk és festettük meg. Néhány szövettenyészet esetében Sudan-fekete és Oil red O festést is végeztünk. A szervtenyészeteket 18 napig tartottuk fenn s belőlük az explantálást követő 2—18. napon át Carnoy-fixálást és parafin beágyazást végeztünk. Az in vitro fenntartott újszülött egér thymus és az in vivo thymus morfológiájának az összehasonlítása céljából a szervtenyészetek korával megegyező korú állatok thymusát is kivettük, fixáltuk és beágyasztuk. Az 5—7 mikron vastagságú metszeteket a következő módon festettük meg: hematoxin-eozinnal, toluidin-kékkel, Gabe-féle aldehyd-fukszinnal (26); a hisztokémiai eljárások közül az amiláz-emésztéssel kombinált PAS-reakciót végeztük el.

Eredmények

A 17—20 napos egér embriók és az újszülött egerek thymusában a kéreg és a velőállomány még nem különíthető jól el. A reticulum-sejtek nyúlványai a thymocyttáktól alig láthatók. Sejtmagjuk ovoid, vagy szabálytalan alakú. A thymocyttákat nagy, középnagy és kis alakok képviselik (1. kép). A kötőszöveti tok alatt elhelyezkedő reticulum-sejtekben gyakran figyelhető meg mitózis. Helyenként PAS-pozitivitást adó sejtek és kisméretű, üres ciszták láthatók. Aldehyd-fukszinnal csak néhány sejt festődött meg. A kötőszöveti

tokban néhány sejt metakromatikusan festődött toluidinkékkel. A születést követően, a 2—16 napos fiatal egerek thymusában a thymocyttal zsúfoltabb kéreg a velőállománytól már jól elkülöníthető (2, 3, 4. kép).

A szövettanészetre explantált thymus-darabkákból az első 24 órában intenzív thymocyta emigráció figyelhető meg, mely a mellékvesével konfrontált thymus esetében fokozottabbnak tűnik. Egy nap múlva az explantátum körül fibroblaszt típusú sejtek jelennek meg, a thymocyta emigráció pedig fokozódik. A 3—6 napos tenyészetben különböző alakú és méretű sejtekből álló lemez, illetve néhány sejtketeg jön létre, vagy az explantátumtól távol hámtípusú sejtek figyelhetők meg laza elrendeződésben (5—8. kép). Közben az explantált thymus és a mellékvese darabkák volumene a sejt-emigráció és a sejtpusztulás következtében csökken. A thymus növekedési zónájában a hámtípusú sejtek két fajtája figyelhető meg: az egyik magja kromatinszegény, világos, a másiké kromatin-gazdag és sötéten festődő. Alakjuk poligonális, sejthatáraikkal szoros vagy laza kontaktust létesítenek egymással (5., 6., 7., 8. kép). A hámtípusú sejtek magja olykor igen változatos alakú, néhány magvacskát tartalmaz (5., 9. kép). Sokszor megfigyelhető amitózisra emlékeztető magalak is (9. kép). Némelyik hámsejt magjában vakuolum látható (10. kép). A tenyésztés idejével párhuzamosan néhány hámsejt citoplazmájában fagocitált anyag (thymocyta) látható az emésztődés különböző stádiumában (11. kép). Ahol a növekedési zóna nagy, mint pl. a 10 napos tenyészetben, ennek szélén a sejtek ellapulttá válnak (12. kép). A hámszóna területén elszórtan igen nagy sejtmagvú, a többinél mintegy háromszor nagyobb méretű sejtek láthatók (5. 12. kép nyíl). A hámsejtek által elfolyósított területen egy- vagy többmagvú *makrofágok* jelennek meg a 4-ik naptól (13. kép), melyek citoplazmája számos vacuolumot tartalmaz. A növekedési zóna területén elszórtan *excentrikus sejtmagvú sejtek* vannak (6. kép nyíl). A *fibroblast típusú sejtek* különböző alakúak és méretűek. A thymocyta-emigrációt követően számuk egyre nő. Sejtmagjuk keskeny-ovális, 2 v. több szabálytalan alakú magvacskát tartalmaz. Előfordulhatnak egyenként, vagy laza csoportokban (5. 7. kép). A *thymocytták* az első naptól degeneráción mennek keresztül, a mag pyknotikus átalakulását mutatva. Elpusztult thymocytták láthatók mind az explantátum közelében, mind pedig távolabb attól részint szabadon, részint fagocitáltan (6., 11., 13. kép).

A mellékvesével konfrontált és anélkül tenyésztett thymus szövettanészetekben megjelent sejt típusok között eltérés nem mutatkozott. A thymocyta emigráció a konfrontáltan tenyésztett thymushban fokozottabb.

Az ivarérett hím egér mellékveséjében jól elkülöníthetők a kéreg zónái és a velőállomány. Mind a kéreg, mind a velőállományban toluidinkékkel metakromatikusan, illetve aldehidfukszinnal festődő sejtek vannak.

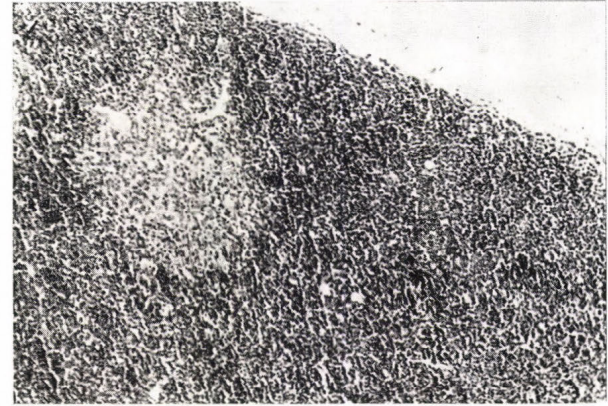
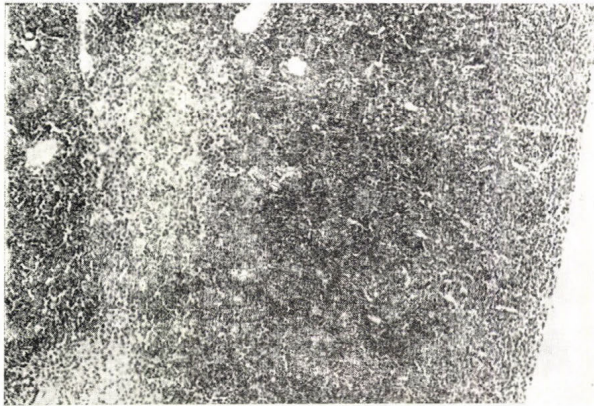
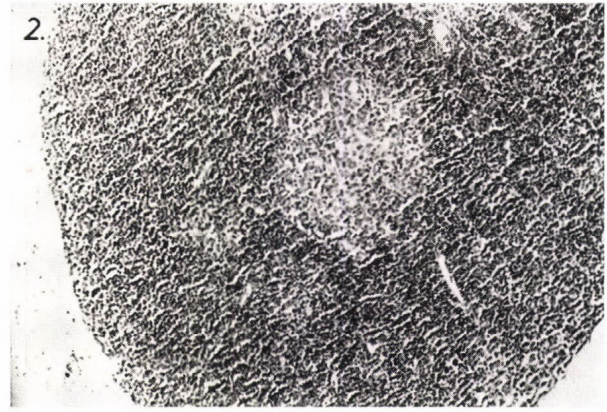
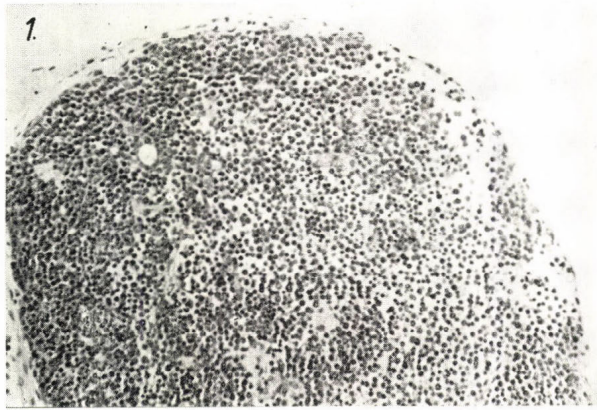
A szövettanészetre explantált mellékvese körül a növekedés lassabban indult meg, kb. 3—4 nap múlva, vagy egyáltalán nem észleltünk növekedést (7. 14. kép). Az explantátum körül fibroblasztok, kis poligonális hámsejtek feltűnő magvacskával és nagyobb hámsejtek gömbölyű vagy ovális sejtmaggal és 2—4 magvacskával láthatók (15. kép). A növekedési zóna sejteinek citoplazmájában Sudan-feketével és Oil red O-val festődött számos cseppecske figyelhető meg. A mellékvese explantátum körül a sejtek tömör kötegekben nőnek, vagy lazán kapcsolódnak egymáshoz. A *szervtenyészetben* tartott embrionális és újszülött thymusból készült metszeteken a thymocytták kiürülése a thymus kérgi zónájából a 3—4. napon már jól látható (16., 18.,

25. kép). A thymocyta emigrációja és pusztulása a tenyésztés előrehaladtával fokozódik (19., 20. kép). A 10. napon már egyáltalán nincsenek thymocyta ebben a zónában vagy számuk igen kevés. Ezáltal fokozatosan jobban megfigyelhetők lesznek a thymus-retikulum sejtek, illetve az ezekből álló tömör ún. *külső zóna*, mely a tenyésztés során mitózisok révén szélesedik (19., 20., 21., 22., 23., 27., 28., 29. kép). A retikulum sejtek csoportosulása is megfigyelhető ebben a zónában (18., 19., 20. kép). Némelyik retikulum sejt pozitív PAS reakciót ad. A 6–8. napon kisebb-nagyobb ciszták keletkeznek, melyeket csillótlan vagy csillós sejtek határolnak (19., 20., 32. kép). A ciszták üregében vagy homogén, PAS-pozitív anyag van vagy PAS-pozitív anyag és sejttörmelék (19. kép), mely amilázrezisztens és toluidinkéssel nem festődik metakromatikusan. A retikulum-sejtek citoplazmája toluidinkéssel halványlila metakromáziát ad. E festés után némelyik sejtben jól megfigyelhető lila szemcsészettség mutatkozik. Ezek a sejttípusok a szervtenyészetek fenntartása során a 16–17. napig figyelhetők meg. A fenntartás ideje alatt nem észleltük, hogy a külső zónát a thymocyta újra benépesítették volna. A külső, tömör zónán belül *átmeneti zóna* látható, melyben lazán elhelyezkedő retikulum-sejtek (18., 19., 20., 21. kép), egy- és többmagvú makrofágok (22. kép), sokmagvú óriás sejtek (16. kép), továbbá degenerálódott thymocyta vannak nagy számban, pl. a 11 és 15 tenyészetben (21., 23., 24. kép). Az átmeneti zóna területén néhány retikulum-sejt szintén ad gyenge PAS-reakciót; ezeknek a magja excentrikus elhelyezkedésű. E sejtek száma a fenntartás idejével párhuzamosan emelkedik. Előfordulnak olyan sejtek is, melyeknek a citoplazmájában toluidinkéssel festődő szemcsék láthatók. A 11. naptól degenerációs jelenségek a retikulum-sejtekben is megfigyelhetők. A sejtpusztulás következtében ez a terület egyre fellazultabb szerkezetűvé válik (21., 23., 29. kép). Az átmeneti zónán belül az ún. *belső zónában* piknotikus magvú, degenerálódó thymocyta vannak, közöttük elszórtan degenerálódó retikulum-sejtcsoportok fordulnak elő (20., 29. kép). Csak némelyik sejt festődik meg toluidin-késsel. A toluidin-késsel festődő sejtek száma, a bennük levő szemcsék mennyisége a fenntartás során csökken.

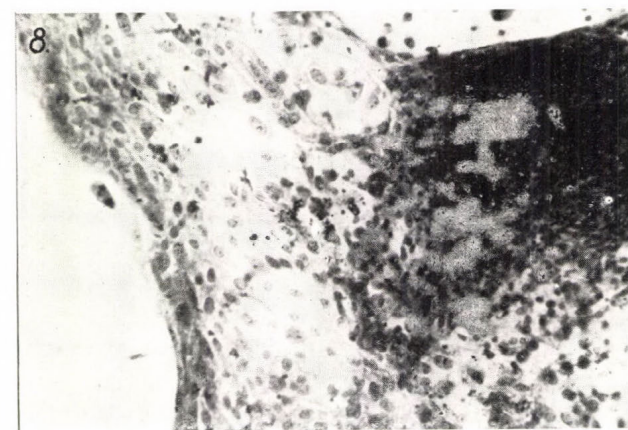
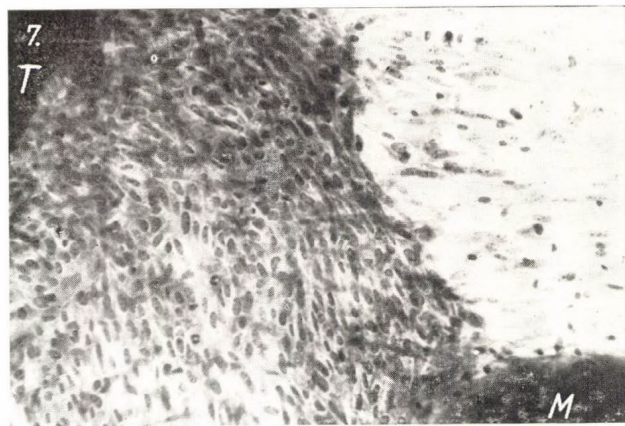
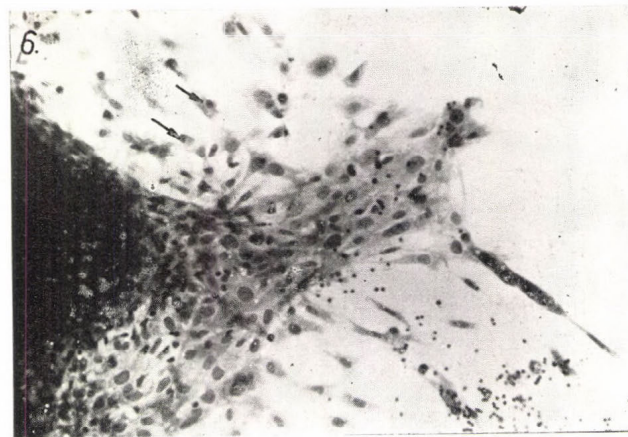
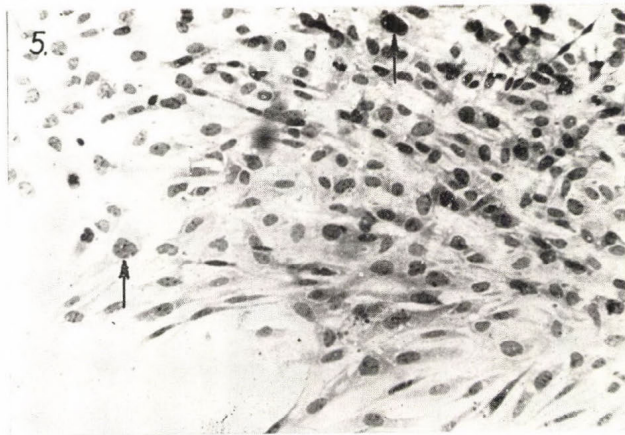
A mellékvesével konfrontált thymusban, a mellékvese felé néző oldalon a degeneráció kifejezettebb volt, mint az önmagában tenyésztett thymusban (28., 30., 31. kép).

A thymus nélkül fenntartott mellékvesében a toluidinkéssel metakromáziát adó szemcséket tartalmazó sejtek száma kevesebb, mint a thymussal konfrontáltan fenntartott esetében. Az utóbbiban, a fenntartás 8. napján a szerv egész területén vannak elszórtan ilyen sejtek, míg a thymus nélkül fenntartottban csak a zona glomerulosa-ban találhatók meg a fenntartás 8. napján.

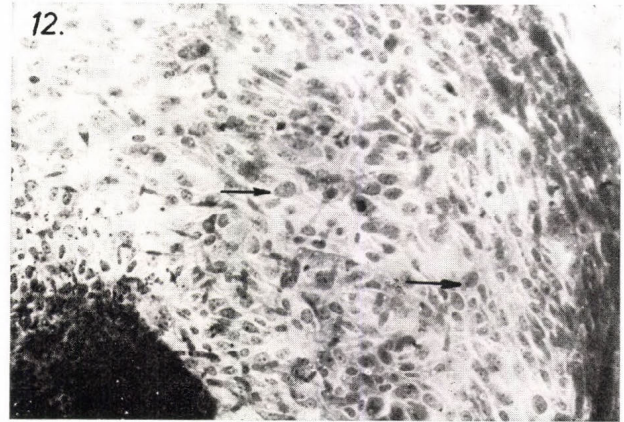
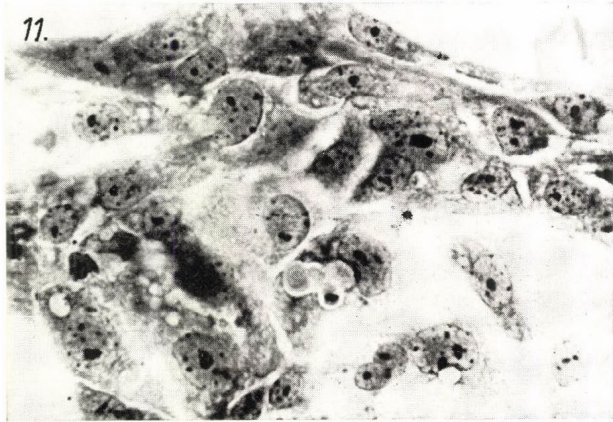
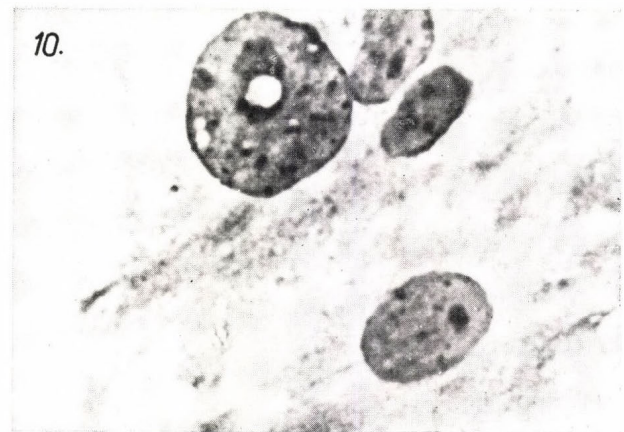
A szervtenyészetben fenntartott mellékvese szerkezete a 13–14. napig elég jól megtartott maradt (24., 26., 27., 28. kép). Toluidin-kék és aldehid-fukszin festés után a mellékvesekéreg mindhárom zónájában elszórtan egy-egy olyan sejt látható, melynek citoplazmája sok metakromatikusan festődött szemcsét tartalmaz. A kötőszöveti tokban és a kéreg külső zónájában elszórtan PAS-pozitív citoplazmájú sejtek vannak. Ezek a sejtek a 14. napig figyelhetők meg. A tenyésztés 13. napjától a mellékvese vemtrális része fokozatosan degenerálódik, a sejtek eozinofiliája nő, magjuk piknotikussá lesz, majd izolálódnak. A szemcséket tartalmazó sejtek száma, valamint a bennük levő szemcsék mennyisége a fenntartás során csökkent.



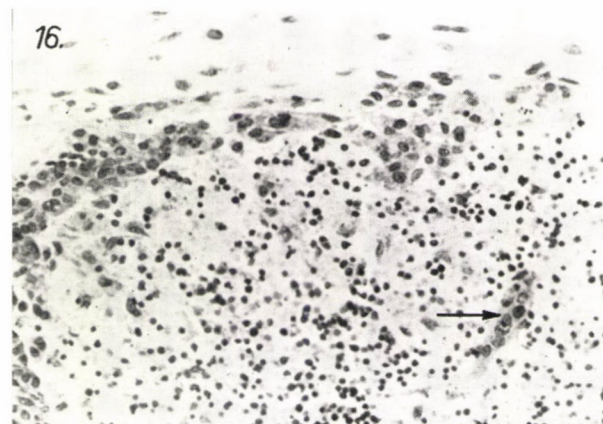
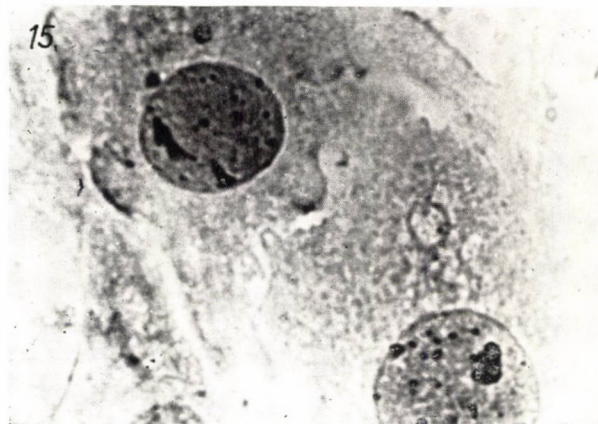
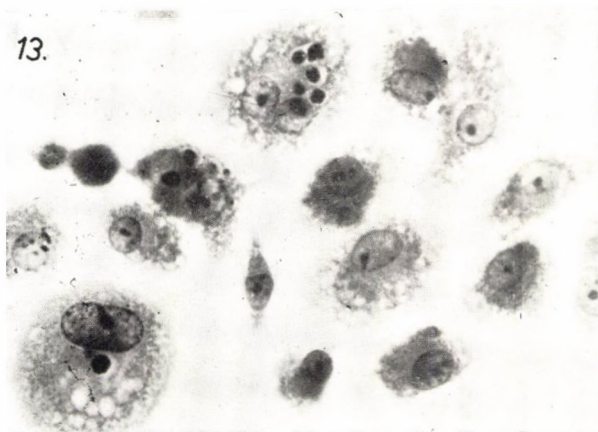
1. Egér embryo thymusa. HE. 10×10 . A kéreg és a velőállomány még nem különíthető jól el.
2. 7 napos egér thymusa HE $6,3 \times 6,3$. A thymocyttákkal zsúfolt kéreg állomány jól elkülöníthető a velőállománytól.
3. 12 napos egér thymusa HE. $6,3 \times 6,3$. A kéreg és velőállomány jól elkülöníthető.
4. 14 napos egér thymusa HE $6,3 \times 6,3$. A kéreg és velőállomány jól elkülöníthető.



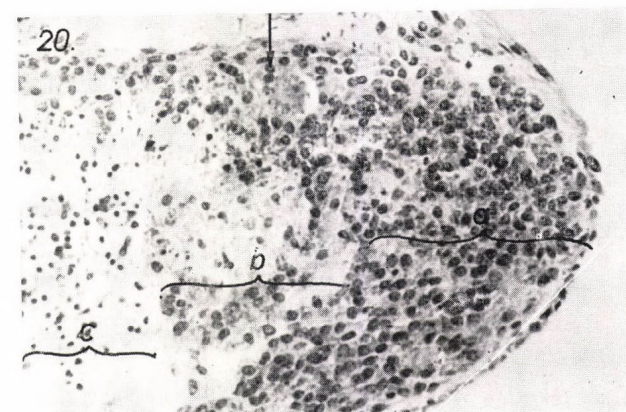
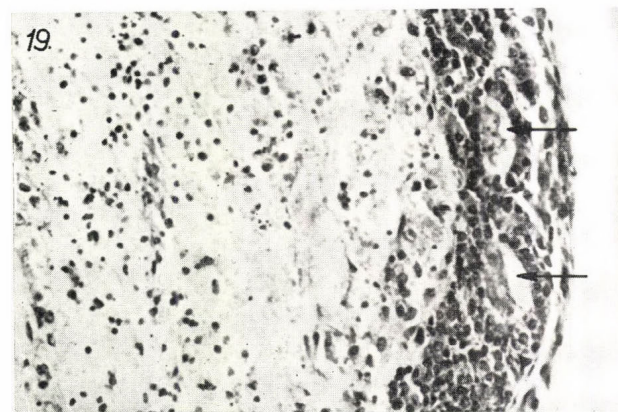
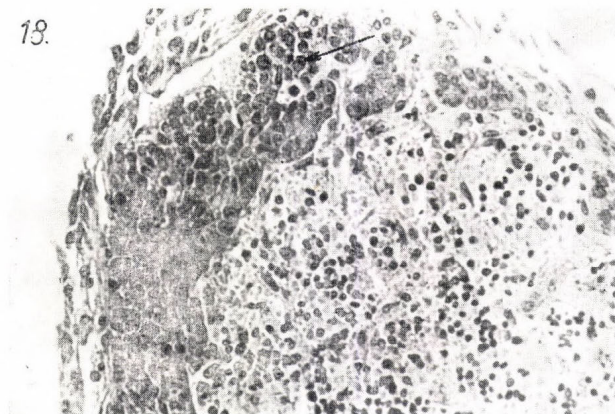
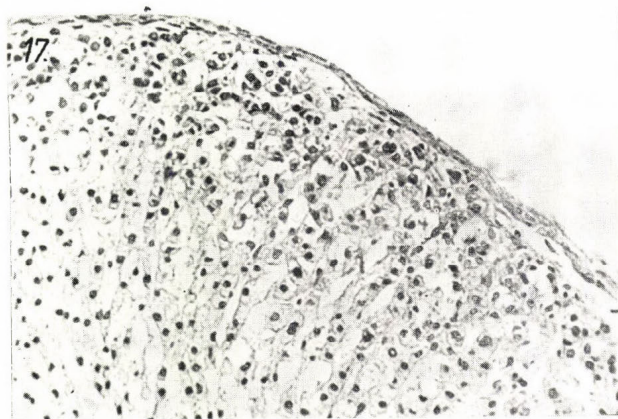
5. Egér embryo thymusa 3 napos szövettényészetben. M.G.G. 10×10 . A növekedési zóna különböző alakú és méretű hám- és fibroblast típusú sejtekből áll. — 6. Mellékvesével konfrontált egér embryo thymusának növekedési zónájában emigrált thymocyta, elszórtan excentrikus sejtmagvú sejtek — nyíl —, 5 napos tenyészetben. M. G.G. 10×10 — 7. Felnőtt egér mellékvese és embryo thymus explantátumok növekedési zónákkal. M: mellékvese, T: thymus. M.G.G. 8 napos tenyészet. 10×10 — 8. Egér embryo thymusának növekedési zónájában hám- és fibroblaszt típusú sejtek. M.G.G. 10×10 . A polygonális hám-sejtek sejthatáiraikkal szoros kontaktusban állnak.



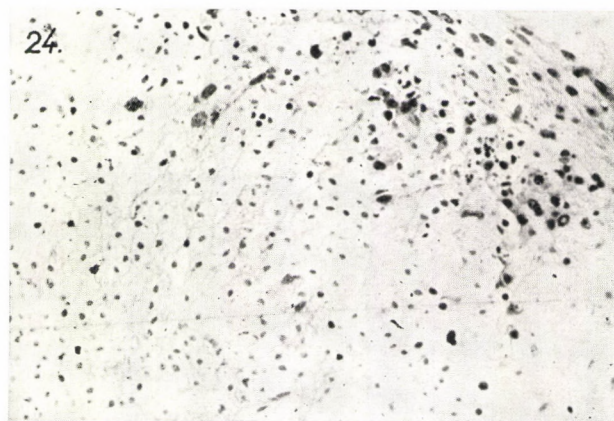
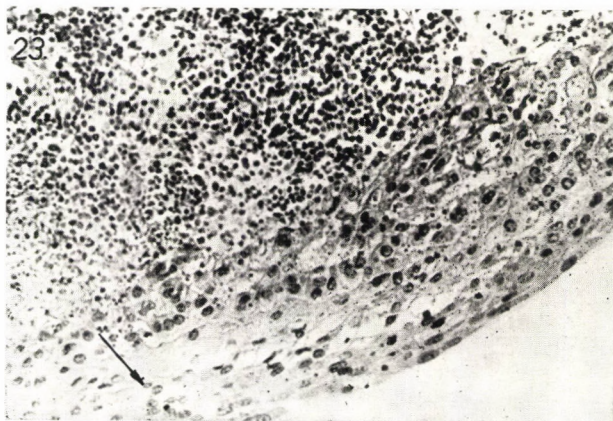
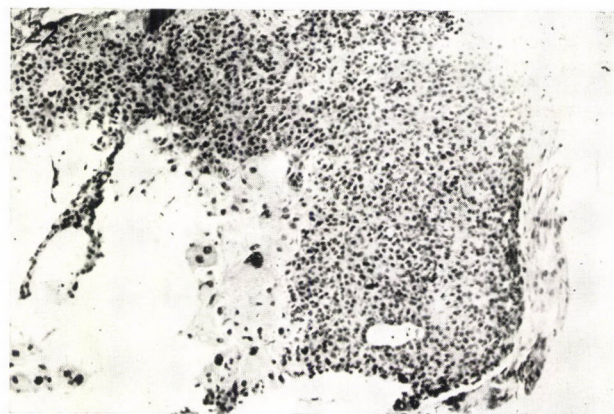
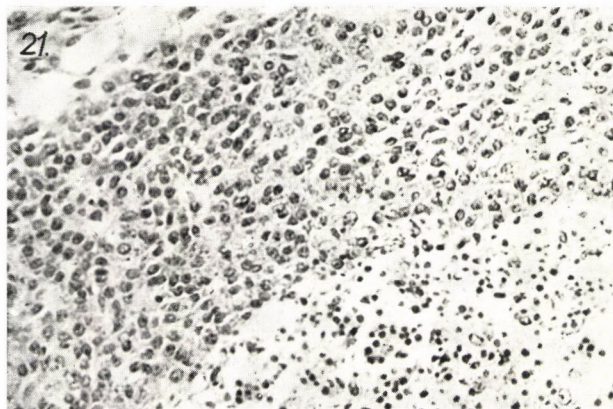
9. Egér embryo thymusának növekedési zónájában amitózisra emlékeztető mag alak 5 napos tenyészetben. M.G.G. $6,3 \times 10$ — 10. Egér embryo thymusának növekedési zónájában hámsejt vacuolizált sejtmaggal 10 napos tenyészetben. M.G.G. 63×10 — 11. Egér embryo thymus növekedési zónájában fagocitált anyag a sejtekben, az emésztődés különböző stádiumában 5 napos tenyészetben. M.G.G. 40×10 — 12. Egér embryo thymus növekedési zónájának szélén ellapult hámsejtek 8 napos tenyészetben. M.G.G. 10×10



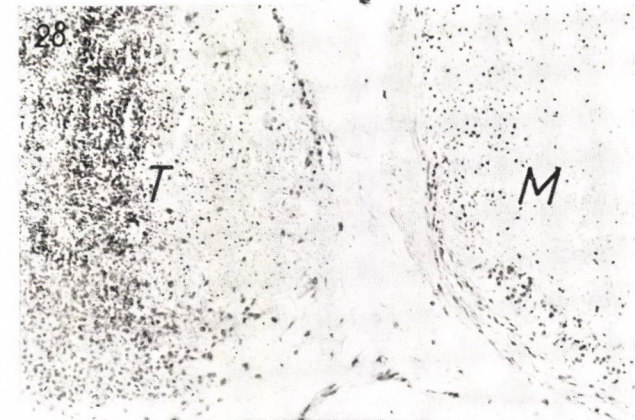
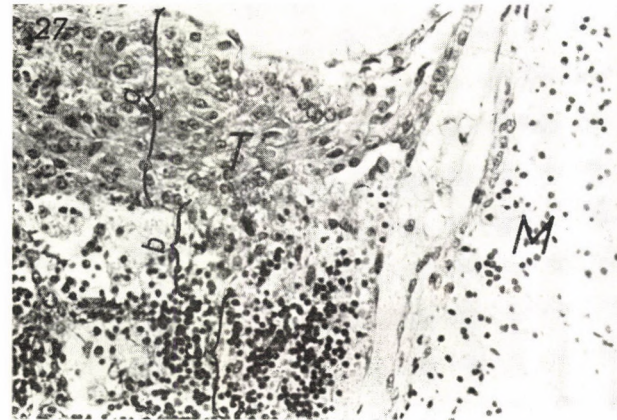
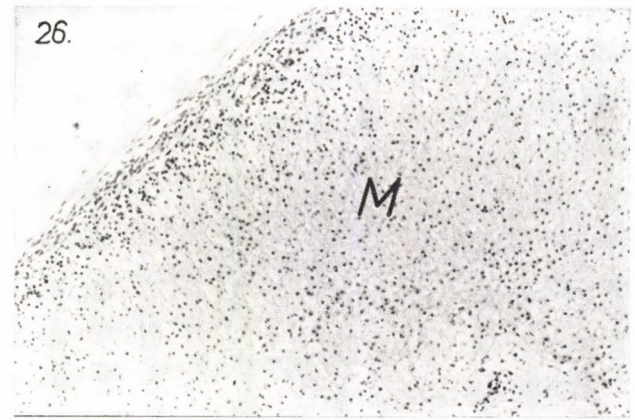
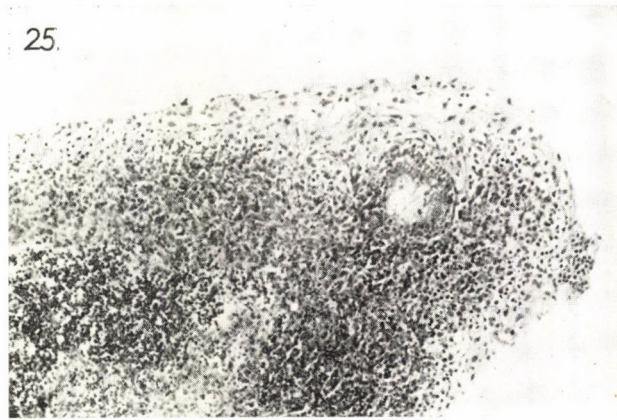
13. Mellékvesével konfrontált egér embryo thymusának növekedési zónájában az elfolyósított területen makrofágok, fagocitált thymocyták 4 napos tenyésztetben. M.G.G. 25×10 — 14. Felnőtt egér mellékvese és embryo thymus explantátumok növekedési zónákkal 5 napos tenyésztet. M: mellékvese. T: thymus. M.G.G. 4×10 — 15. Thymussal konfrontált felnőtt egér mellékvese növekedési zónájában nagyobb hámsejtek, gömbölyű sejtmaggal 10 napos tenyésztetben. M.G.G. 63×10 — 16. Mellékvesével konfrontált egér embryo thymus 4 napos szervtenyésztete. HE. $6,3 \times 6,3$. A külső zónából thymocyták kiürülése. Az átmeneti zónában sokmagvú óriássejt. →



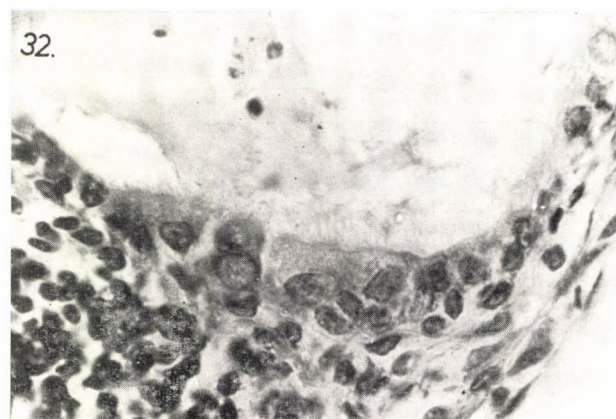
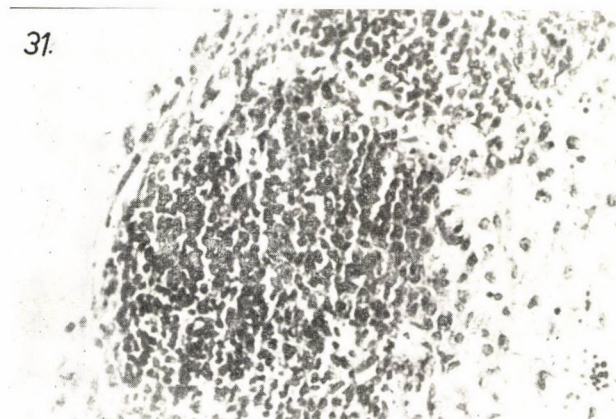
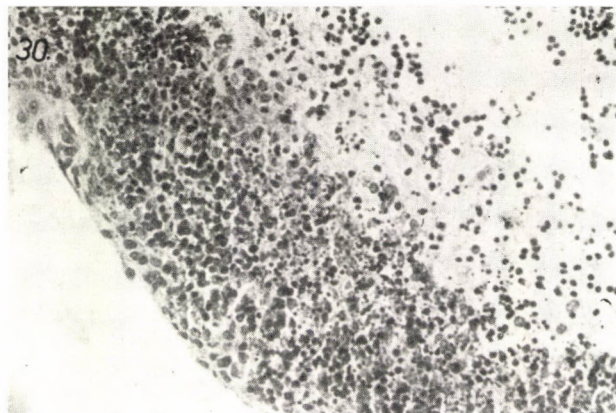
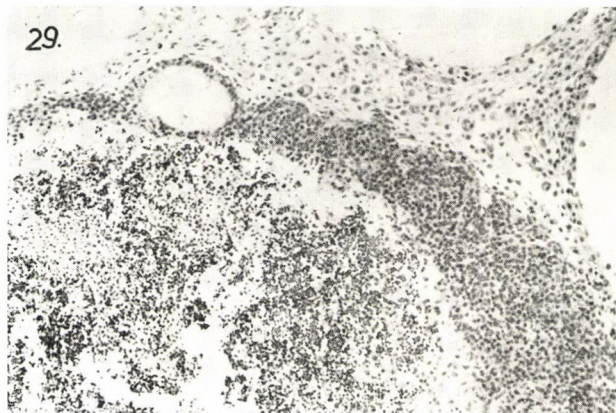
17. Ivarérett egér mellékvese 4 napos szervtenyészetben. HE. $16 \times 6,3$ — 18. Felnőtt egér mellékvesével konfrontált egér embryo thymus 4 napos szervtenyészetben HE. $16 \times 6,3$. Retikulumsejtek csoportosulása a külső zónában → Retikulumsejtek lazán az átmeneti zónában. — 19. Felnőtt egér mellékvesével konfrontált egér embryo thymus 8 napos szervtenyészetben. HE. $16 \times 6,3$. A külső zónában ciszták, üregükben PAS pozitív anyag és sejttörmelék. Az átmeneti zónában retikulumsejtek és thymocyták. — 20. Felnőtt mellékvesével konfrontált egér embryo thymus 8 napos szervtenyészetben HE. $16 \times 6,3$. Retikulumsejtek csoportosulása a külső zónában, kialakuló ciszta. Átmeneti zóna. Belső zóna. a, b), c)



21. Felnőtt egér mellékvesével konfrontált egér embryo thymus szervtenyészetben 11 nap múlva HE. $16 \times 6,3$. Külső zóna, az átmeneti zóna, területén lazán elhelyezkedő retikulumsejtek, makrofágok, thymocyták. — 22. Felnőtt egér mellékvesével konfrontált egér embryo thymus 14 napos szervtenyészetben. HE. $6,3 \times 6,3$. Külső zóna, átmeneti zónában makrofágok. — 23. Felnőtt egér mellékvesével konfrontált egér embryo thymus 15 napos szervtenyészetben HE. $16 \times 6,3$. Az átmeneti zónában a retikulumsejtek közt degenerációs jelenség. — 24. Felnőtt egér mellékvese thymussal konfrontált 15 napos szervtenyészetben HE. $16 \times 6,3$



25. Újszülött egér thymus felnőtt mellékvesével konfrontált 3 napos szervtenyészetben HE. $6,3 \times 6,3$ — 26. Újszülött egér thymusa felnőtt egér mellékvesével konfrontált 3 napos szervtenyészetben. HE. $6,3 \times 6,3$. A mellékvese szerkezete jól megtartott. M: mellékvese. — 27. Újszülött egér thymus felnőtt egér mellékvesével konfrontált 8 napos szervtenyészetben. $16 \times 6,3$ HE. T: thymus. M: mellékvese. A thymusban a külső — átmeneti — és belső zóna a), b), c). — 28. Újszülött egér thymus felnőtt egér mellékvesével konfrontált 11 napos szervtenyészetben HE. $6,3 \times 6,3$. M: mellékvese. T: thymus



29. Egér embryo thymus mellékvesével 15 napos szervtenyésztésben HE. $6,3 \times 6,3$. A külső zónában ciszta.
30. Egér embryo thymus mellékvese nélkül 3 napos szervtenyésztésben. HE. $6,3 \times 6,3$. A külső zónában még sok a thymocyt.
31. Egér embryo thymus mellékvese nélkül 8 napos szervtenyésztésben HE. $6,3 \times 6,3$
32. Egér embryo thymus mellékvese nélkül 8 napos szervtenyésztésében csillós hámsejtekkel bélelt ciszta részlete. HE. $40 \times 6,3$

Megbeszélés

Az implantálás előtt levő embrionális és újszülött egér thymusában ugyanazokat a sejteket figyeltük meg, melyeket korábban ITO és HOSHINO (36) leírtak.

A szövettenyészetbe explantált embrionális thymus és az ivarérett egér mellékveséjével konfrontált thymus növekedésében, a megjelent sejtípusokban lényeges különbség nem mutatkozott. Mellékvese jelenlétében a thymocyta emigráció és pusztulás intenzívebb volt. Feltételezzük, hogy ez a változás a mellékvesében a kiültetéskor még jelen levő kortikoszteroidok hatására jött létre. Ismeretes, hogy a kortikoszteroidok a thymocyták és a lymphocyták pusztulását idézhetik elő (18, 19, 67). A thymus szövettenyészetében látható extrém nagy sejtek talán egysejtű Hassal-testnek felelnek meg. A sejtmagokban elvértve megfigyelhető vacuolum keletkezésének okát nem ismerjük. Lehetséges, hogy a magvacskával kapcsolatos anyagszere és strukturális változás a jelenség oka, amely degenerációs jellegű is lehet. A thymus szövettenyészet növekedési zónájában a TOMATIS és WANG (73) által leírt sejteket figyeltük meg.

A szövettenyészetbe explantált mellékvese növekedése rövid latencia idő után kezdődött, s a növekedés mértéke csekély volt, ami összefüggésbe hozható azzal, hogy az explantált szerv kifejlett állatból származott. Ezzel kapcsolatban hasonló tapasztalatra jutott LUX, HIGGINS és MANN (46) is. A növekedési zónában megjelent sejtek a zona glomerulosa és zona fasciculata sejteire emlékeztetnek.

A szervek fenntartásához szervtenyészetben gázkeveréket nem használtunk, mert a szervek 2/3-a a tenyészedényben a levegővel érintkezett és csak 1/3-a volt a lencsepapíron, melyre a szerveket helyeztük. A lencsepapíron a sejt kivándorlás mértéke kisebb mint a koagulált táptalajon, ugyanakkor a lencsepapír porozítása lehetővé teszi a tápanyagok és a bomlástermékek diffundálását.

A szervtenyészeteket 18 napon át tartottuk fenn. Ismeretes, hogy érett szervek fenntartása sokáig nem is lehetséges. Így ismeretes, hogy a mellékvese hosszabb tenyésztés során fokozatosan elveszti működőképességét. BODEY, MIODUSZEWSKA és GEY (9) különböző ideig előtenyésztettek patkány mellékveséket, majd ezeket adrenalektomizált állatokba implantálták. Amikor 7 napig történt a mellékvese tenyésztése, a recipiens állatok az implantáció után 100%-ban életben maradtak, míg ha az előtenyésztés 13–48 napig tartott, a recipiens állatok nem maradtak életben.

A thymus szervtenyészetben, mellékvesével konfrontáltan vagy anélkül, megfigyelhető volt az explantált szervdarab 3 zónára való tagolódása. A külső zóna fokozatosan thymocyta mentessé vált. Ismert, hogy a mellékvesekéreg hormonok specifikus target-sejtjei a thymocyták és a lymphocyták. A thymocyták érzékenyebbek, mint a nyirokesomók lymphocytaí, mint azt DOUGHERTY (20) megfigyelte. Az érett thymocyták érzékenyebbek a kortikoszteroidokra, röntgenbesugárzásra (80), mint az éretlenek. A thymus kéregben főleg érett thymocyták vannak s ezek elpusztulnak. Az érőben levők amőboid mozgás révén a centrum felé vándorolnak vagy átalakulnak (28). Az explantált thymus külső zónájának a fenntartás során bekövetkező kiszélesedésében a reticulum-sejtek osztódása, a thymocyták átalakulása, vagy esetleg mindkét folyamat szerepet játszhat. A külső zónának thymocyttákkal való repopolá-

cióját nem észleltük és a thymocyták osztódását sem figyeltük meg. Ezzel kapcsolatban érdekesek azok az adatok, melyek szerint a thymus lymphopoiesist a Ca (57, 58), továbbá a parathyreoidea (59, 60) befolyásolja. Parathyreoidea-hormon vagy kalciumklorid beadása patkányban stimulálja a thymocyták mitózisát. A magasabb Ca-koncentráció MACMANUS és WHITFIELD szerint (49) a thymocyták DNS-szintézisét az intracelluláris cAMP-n keresztül fokozza. Lehetséges, hogy a szervtenyészet folyékony mediumának Ca-tartalma nem volt elegendő a thymocyták mitózisának stimulálásához és természetesen az említett hormon hiányával is számolni kell.

A külső zónában, mint láttuk, PAS-pozitív sejtek találhatók egyenként, vagy olyan cisztákat határolva, melyek PAS-pozitív, homogén anyagot tartalmaznak. A PAS-pozitív, amiláz-rezisztens anyag mukoprotein, vagy neutrális mukopoliszacharida, amely DIDERHOLM és HELMAN (16) vizsgálata szerint metabolizálódhat s így nem tekinthető „halott állománynak”. A thymus in vitro fenntartása során ezért figyelhető meg inkább, mint in vivo esetekben, ahol a keringés útján közvetlenül (54), vagy közvetve a thymocyták közreműködésével (76) a szervből kijuthat. In vitro a thymocyták pusztulása és a keringés hiánya miatt a termelés helyén halmozódik fel. A thymusban PAS-pozitív anyag jelenlétéről korábban már több szerző beszámolt (14, 15, 16, 52, 53, 68, 75, 77). Ismeretes, hogy a thymus elsődleges reakciója különböző behatásokra a thymocyták kiürülésén kívül Hassall-testek, vagy ciszták létrehozása. Több szerző adatai szerint a cisztákat csillós sejtek is határolhatják (21, 22, 30, 32, 56). HAMMAR (31) szerint csillós sejtek megjelenése a thymusban a szerv branchiogen eredetére utal. Az általunk megfigyelt, toluidinkékkel és aldehidfukszinnal festődő szemcsés reticulum-sejtek feltehetően azonosak azzal a sejtípussal, amelyet egér thymusban PANSKY (55), hörcsög thymusban ITO (35) írt le.

Az átmeneti területen, ahol intenzív a sejtpusztulás, egy- és többmagvú makrofágok számának növekedése figyelhető meg. Citoplazmájukban fagocitált thymocyták és sejtörmelékek láthatók. A makrofágok SUTTON és WEISS (72) szerint monocyták transzformációja révén keletkeznek. Feltehetjük, hogy a tenyészeinkben megfigyelt makrofágok ilyen módon is keletkezhetnek. Mind a makrofágok mind a reticulum-sejtek thymocyták fagocitózisára képesek (43), nem ismert azonban, hogy ezeket a sejteket mi készíteti erre a fagocitózisra. A sokmagvú sejtek, amelyeket tenyészeinkben magunk is megfigyeltünk, szintén létrejöhetnek monocyták fúziója révén (72). Sokmagvú óriás-sejtek megjelenését és a thymusvelő degenerációját már a tenyésztés első hetében tapasztalta PINKEL (62) is, jöllehet a tenyészetek fenntartásához CO₂ gázkeveréket használt.

A mellékvese szervtenyészetek végzett megfigyeléseink megegyeznek más szerzők megfigyeléseivel (51, 61, 79). A kötőszöveti tok és a subcapsularis rész maradt fenn a legtovább, míg a többi régió nekrozison ment át. A zona fasciculata sejtjeinek pótlása nem ment végbe a tok, illetve a z. glomerularis felől eltérően SCHABERG (64) megfigyelésétől. Ugyanez a szerző (66) leírta, hogy a mellékvese szerkezete hypophysis-konfrontáció alkalmazásával egy ideig fenntartható. A z. fasciculata sejtek elpusztulásának és glukokortikoid termelés megszűnésének tudható be, hogy bizonyos idő után további változásokat a konfrontált thymusban nem észlelhattünk. Bár magunk mellékvese tenyészeinkben hormonmeghatározást nem végeztünk, az irodalmi adatok szerint a mellékvese in vitro körülmények között tartva egy időn át magában

is (9, 51), vagy hipofízis jelenlétében termel kéreghormonokat. A thymussal konfrontált mellékvese szervtenyészet viszonylag jobban megőrizte szerkezetét mint az egyedül fenntartott. Lehetséges, hogy itt a thymusnak, mint fiatal állatból származó szervnek valamiféle előnyös hatása játszott szerepet.

IRODALOM

1. ANTOPOL, W. (1950): Anatomic changes produced in mice treated with excessive doses of cortisone. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, (N. Y.), **73**, 262—265.
2. AUERBACH, R. (1960): Morphogenetic interactions in the development of the mouse thymus gland. *Developm. Biol.*, **2**, 271—284.
3. AUERBACH, R. (1961): Experimental analysis of the origin of cell types in the development of the mouse thymus. *Developm. Biol.*, **3**, 336—354.
4. AUERBACH, R. (1964): Experimental analysis of mouse thymus and spleen morphogenesis. In: R. A. GOOD and A. E. GABRIELSON (eds), *The Thymus in Immunobiology*, pp. 95—103.
5. BALL, W. D., AUERBACH, R. (1960): In vitro formation of lymphocytes from embryonic thymus. *Exp. Cell Res.*, **20**, 245—247.
6. BAKER, B. L., DURIGHT, J. INGLE and CHOH HAO LI. (1951): The histology of the lymphoid organs of rats treated with adrenocorticotropin. *Am. J. Anat.*, **88**, 313—349.
7. BALL, W. D. (1963): A quantitative assessment of mouse thymus differentiation. *Exp. Cell Res.*, **31**, 82—88.
8. BLOCH, E., ROMNEY, S. L., KLEIN, M. (1965): Steroid synthesis by human fetal adrenals and ovaries maintained in organ cultures. *Soc. Exp. Biol. Proc.*, **119**, 449—452.
9. BODEY, G. P., MIODUSZEUSKA, O. and GEY, G. O. (1961): Studies on adrenal transplantation. I. Homologous and autogenous transplants. *Am. J. of Anat.*, **108**, 167—177.
10. BOUSQUET, J. et MEUNIER, J. M. (1964): Culture organotypique de fragments de thymus de rats nouveau-nés. *Comp. Soc. de Biol.*, **158**, No. 7.
11. CHEN J. M. (1954): The cultivation in fluid of medium of organised liver, pancreas and other tissues of foetal rats. *Exp. Cell Res.*, **7**, 518—529.
12. COMSA, J. (1957): Effect of thymectomy upon the functional condition of the adrenal cortex in guinea pigs. *Nature*, **179**, 872—873.
13. COMSA, J. (1958): Influence of the thymus on the reaction of the adrenal to adrenocorticotrophic hormone in the rat. *Nature*, **182**, 57—58.
14. CSABA, G., TÖRÖ, I. und BODOKY, M. (1963): Beziehungen Zwischen der Funktion von Thymus und Nebennierenrinde und ihre Anwirkung auf den Serumspiegel der sauren Mukopolysaccharide. *Z. mikr. Anat. Forsch.*, **69**, 467—472.
15. CSABA, G., DUNAI, Cs., OLÁH, I. and TÖRÖ, I. (1967): Effect of glucocorticoids on the thymus. I. Histochemical and electron-microscopic investigation of mast cell formation. *Acta Biol. Hung.*, **18**, 3. 345—361.
16. DIDERHOLM, H. and HELLMANN, B. (1958): Nature and metabolism of a thymus cyst studied by histochemistry and autoradiography. *Z. f. Zellforschung*, **48**, 450—454.
17. DOUGHERTY, T. F., WHITE, A. (1945): Functional alterations in lymphoid tissue induced by adrenal cortical secretion. *Am. J. Anat.* **77**, 81—116.
18. DOUGHERTY, T. F. (1952): Effect of hormones on lymphatic tissue. *Physiol. Rev.* **32**, 379.
19. DOUGHERTY, T. F. (1960): Lymphocyto-karyorhetic effects of adrenocortical steroid. In: *The lymphocyte and lymphocytic tissue*, J. W. Rebuck, editor. Harper Row Publishers, New York, 112.
20. DOUGHERTY, T. F., BERLINER, M. L., SCHEEBEL, G. L., BERLINER, D. R. (1964): Hormonal control of lymphatic structure and function. *Ann. New York Acad. Sci.*, **113**, 825—843.
21. DUKOR, P., MILLER, J. F. A. P., HOUSE, W. and ALLMAN, V. (1965): Regeneration of thymus grafts. I. Histological and citological aspects. **3**, 5. 639—667.
22. DUSTIN, A. P. (1909): Contribution à l'étude du thymus reptiles. Cellules epitheloides, cellules myoides et corps de Hassall. *Arch. de Zoolog. Exp. et Gen.*, **5**, 2.
23. ERÄNKÖ, O., KAHARI, A. (1965): Survival of chromaffin cells in organ culture of the adrenal medulla. *Nature*, **205**, 1227—1230.
24. FACHET, J., STARK, E., VALLENT K., PALKOVITS M. (1962): Megfigyelés a thymus és mellékvese kéreg működésének kapcsolatára vonatkozóan. *Orv. Hetilap*, **103**, 2209—13.

25. FIELD, E. J. (1956): Some morphological effects of large doses of cortisone in the rabbit with special reference to the thymus and appendix. *J. Anat.* (London), **90**, 428—39.
26. GABE, M. (1953): Sur quelques application de la coloration par la fuchsin paraldehyde. *Bull. Micr. Appl.*, **3**, 152—162.
27. GAILLARD, P. J. and SCHABERG, A. (1965): Endocrine glands. In: *Cells and tissues in culture*. Academic Press, London, New York. 631—695.
28. GAUDECKER, B. und HINRICHSSEN, K. (1965): Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytologie von Thymusrinde und Keimcentrum. *Z. f. Zellforsch.*, **65**, 139—162.
29. GREGORIE, CH. (1943): Regeneration of the involuted thymus after adrenalectomy. *J. Morph.*, **72**, 239—262.
30. HAMMAR, J. A. (1905): Zur Histogenese und Involution der Thymusdrüse. *Anat. Anz.*, **27**, 41—89.
31. HAMMAR, J. A. (1909): Fünfzig Jahre Thymusforschung. *Ergebn. Anat. Entwickl.-gesch.*, **19**, 1—274.
32. HOSHINO, T. (1961): Occurrence of ciliated vesicle-containing reticular cells in the mouse thymus. *Okajimas Folia Anat. Jap.*, **37**, 209—213.
33. INGLE, D. J. (1940): Effect of two steroid compounds on weight of thymus of adrenalectomized rats. *Proc. Soc. Biol. and Med.*, **10**, 174.
34. ISHIDATE, M., METCALF, D. (1963): The pattern of lymphopoiesis in the mouse thymus after cortisone administration or adrenalectomy. *Austral. J. exp. Biol. med. Sci.*, **41**, 637—649.
35. ITO, T. (1959): Über Einschlusshaltige Zellen im thymus des Goldhamster. *Z. f. Zellforsch.*, **49**, 739—747.
36. ITO, T., HOSHINO, T. (1962): Histological changes of the mouse thymus during involution and regeneration following administration of hydrocortisone. *Z. Zellforsch.*, **56**, 445—464.
37. ITO, T., HOSHINO, T. (1966): Fine structure of the epithelial reticular cells of the medulla of the thymus in the golden hamster. *Z. f. Zellforsch.*, **69**, 311—318.
38. KAHRI, A. (1966): Histochemical and electron microscopic studies on the cells of the rat adrenal cortex in tissue culture. *Acta Endocrin.*, **52**, Suppl. 108. 1—96.
39. KASAHARA, S. (1933): On the cultivation of the adrenal gland. *Soc. path. japon. Acta*, **23**, 450—455.
40. KENDALL, P. A., ZIMMERMAN, G. R., FOLK, G. R. Jr. (1960): Culture of the mature hamster adrenal. *Exp. Cell Res.*, **21**, 274—278.
41. KNÖLL, E. J. (1937): Über die Züchtung von Nebennierenepithelzellen. *Arch. exp. Zellforsch.*, **20**, 198—207.
42. KORVAL, J. et al. (1969): Adrenal cells in tissue culture. *Endocrinology*, **84**, 1113—7.
43. LA PUSHIN, R. W., DE HARVEN, E. (1971): A study of gluco-corticosteroid-induced pyknosis in the thymus and lymph node of the adrenalectomized rat. *J. Cell Biol.*, **50**, 583—597.
44. LEE, R. E. Jr. (1962): Histological and histochemical effects of ACTH and cortical steroids in the thymus of the albino rat. *Anat. Rec.*, **142**, 340—1. (Abstract).
45. LEE, E., DOMM, L. V. (1964): Histological and histochemical studies on the rat thymus following adrenalectomy and ACTH and cortical steroid administration. *Amer. J. Anat.*, **114**, 93—105.
46. LUX, L., HIGGINS, G. M., MANN, F. C. (1935): Tissue culture. *Proc. Mayo. Clin.*, **10**, 461—464.
47. LUX, L., HIGGINS, G. M., MANN, F. C. (1938a): Homeotransplantation of the guinea pig and rabbit adrenal grown in vitro. *Anat. Rec.*, **67**, 353—365.
48. LUX, L., HIGGINS, G. M., MANN, F. C. (1938b): Functional homeografts of rat adrenal gland grown in vitro. *Anat. Rec.*, **70**, 29—44.
49. MACMANUS, J. P., WHITFIELD, J. F. (1971): Cyclic AMP-mediated stimulation by calcium of thymocyte proliferation. *Exp. Cell Res.*, **69**, 281—8.
50. MANUELIDIS, L. (1970): Adrenal gland in tissue cultures. *Nature* (London), **227**, 619—21.
51. MARTINOVITCH, P. N. (1955): Infantile rat adrenal transplanted into the anterior eye chamber of adrenalectomized hosts after cultivation in vitro. *J. exp. Zool.*, **129**, 99—120.
52. METCALF, D., ISHIDATE, M. (1961): Periodic acid-schiff positive giant cells in the mouse thymus cortex. *Nature*, **191**, 305.
53. METCALF, D., ISHIDATE, M. (1962): PAS-positive reticulum cells in the thymus cortex of high and low leukaemia strains of mice. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.*, **40**, 57—71.
54. OSOBA, D., MILLER, J. F. A. P. (1965): Evidence for a humoral thymus responsible for the maturation of immunological faculty. *Nature*, **199**, 653—54.
55. PANSKY, B., HOUSE, E. L. (1965): The granular reticular cells of the thymus in the AKR/JA

55. PANKSKY, B., HOUSE, E. L. (1965): The granular reticular cells of the thymus in the AKR/JAX mouse. *Anat. Rec.*, **152**, 451—8.
56. PENSA, A. (1905): Osservazioni sulla struttura del timo. *Anat. Anz.*, **27**, 529—41.
57. PERRIS, A. D., WHITFIELD, J. F. (1967a): Effect of calcium on mitosis in the thymus of normal and irradiated rats. *Nature* (London) **214**, 302.
58. PERRIS, A. D. (1967b): Calcium and the control of mitosis in the mammal. *Nature* (London) **216**, 1350.
59. PERRIS, A. D., WHITFIELD, J. F., RIXON, R. H. (1967): Stimulation of mitosis in bone marrow and thymus of normal and irradiated rats by divalent cations and parathyroid extract. *Rat. Res.*, **32**, 550.
60. PERRIS, A. D., WEISS, L. A., WHITFIELD, J. E. (1970): Parathyroidectomy and the induction of thymic atrophy in normal, adrenalectomized and orchidectomized rats. *J. Cell. Physiol.*, **76**, 141—9.
61. PETROVIC, A. (1960a): Culture organotypique et homographe intratesticulaire de fragments du cortex surrénal chez le cobay. *C.R. Soc. Biol. (Par)*, **154**, 1077—79.
62. PINKEL, D. (1964): Cultivation of mouse thymus in organ culture. *P.S.E.B.M.*, **116**, 54—6.
63. RINGERT, N., FAGGRAEUS, A., BERGLUND, K. (1952): On the action of cortisone the thymus and lymph nodes in mice. *Acta path. microbiol. scand.*, **30**, 93, 44—51.
64. SCABERG, A. (1955b): Regeneration of the adrenal cortex in vitro. *Anat. Rec.*, **122**, 205—222.
65. SCABERG, A., DE GROOT, C. A. (1958): The influence of the anterior hypophysis on the morphology and of the adrenal cortex in vitro. *Exp. Cell. Res.*, **15**, 475—483.
66. SCABERG, A., DE GROOT, C. A. (1963): Function al activity of foetal and neonatal rat adrenal cortex in vitro. *Arch. int. Pharmacodyn.*, **146**, 207—216.
67. SCHREK, R. (1949): Cytotoxic action of hormones of the adrenal cortex according to the methods of unstained cell counts. *Endocrinology*, **45**, 317.
68. SHELTON, E. (1966): Differentiation of mouse thymus cultured in diffusion chambers. *Fed. Proc.*, **25**, 2297.
69. SIDKY, A. (1968): Effect of steroids on thymus lymphoid development in vitro. *Anat. Rec.*, **161**, 187—196.
70. SSIPOWSKY, P. W. (1929): Über in vitro Kulturen der Kaninchennebenennieren. *Arch. exp. Zellforsch*, **8**, 237—249.
71. STARK, E., GYÉVAI, A., SZALAY, K., PÓBALAKY, Z. (1965): Secretion of adrenocorticotrophic hormone by hypophysical cells grown in monolayer culture. *J. Endocr.*, **31**, 291—292.
72. SUTTON, J. S., WEISS, L. (1966): Transformation of monocytes in tissue culture into macrophages, epitheloid cells and multinucleated cells. *J. Cell. Biol.*, **23**, 303—332.
73. TOMATIS, L., WANG, L. (1965): The presence of lymphocytes in long term cultures of newborn mouse thymic epithelium. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **120**, 472—480.
74. TÖRÖK, I., CSABA, G., BERNAD, I., BODOKY, M. (1963): Über ähnliche Potenzen des Trachea- und Thymusepithels im Transplantationsversuch. *Morph. Jahrbuch*, **104**, 375—393.
75. TÖRÖK, I., PÁLYI, I., CSAPÓ, I., GAZSÓ, L. (1964): Microcinematographic studies of the epithelial cells of the thymus. *Acta Morph.* **13**, 51—73.
76. TÖRÖK, I., OLÁH, I. (1967): Penetration of thymocytes into the blood circulation. *J. Ultrastruct. Res.*, **17**, 439—451.
77. TÖRÖK, O. (1966): Comparative examination of keratinization in Hassal's corpuscles of entodermal origin and oesophagus epithelium on guinea pigs. I. Histological and histochemical examination. *Acta. Biol. Hung.*, **16**, 341—352.
78. TÖRÖK, O., CSABA, G. (1973): Tengerimalacba implantált homológ thymus és thymus sejt-szuszpénzió viselkedése. *Biol. Közl. (közlés alatt)*.
79. TROWELL, O. A. (1959): The culture of mature organs in a synthetic medium. *Exp. Cell. Res.*, **16**, 118—147.
80. TROWELL, O. A. (1961): Radiosensitivity of cortical and medullar lymphocytes in the thymus. *Internat. Journ. Radiat. Biol.*, **4**, 163—173.
81. UDALL, V. (1955): The action of cortisone on the thymus of the nestlin rat. *J. Path. Bact.*, **69**, 11—15.
82. WEAWER, J. H. (1955): Changes induced in the thymus and lymph nodes of the rat by the administration of cortisone and sex hormones and by other procedures. *J. Path. Bact.*, **69**, 133—139.
83. WELLS, L. J. et al. (1968): Development of pancreas and adrenal of rat embryos in organ culture. *Anat. Rec.*, **160**, 201—5.

ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ И ТИМУСА МЫШЕЙ В ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ КУЛЬТУРЕ

О. Терек

Изучали взаимодействие эмбрионального тимуса и надпочечников мышей в тканевой и органной культуре. Тканевые культуры приготавливали по обще принятой методике в посуде—Н, а органные культуры по методу Чен. Культуры были окрашены гематоксили-эозином, толундиновым синем и альдегидфуксином, также применяли реакцию ШИК. Наблюдали особенность роста, морфологию отдельных типов клеток тканевой и органной культуры, изучали свойства их окрашивания и их цитологические особенности, проследили морфологические проявления секреции и фагоцитоза. Совместной органной культуре наблюдали характерную зональность, где особенно было выражено строение и распространение наружной зоны, не содержащей тимоциты, состоящей только из ретикулоцитов. Особые изменения, наблюдаемые в совместной культуре, связываем с изменением содержания гормонов коры надпочечников взрослых животных.

OBSERVATIONS ON MOUSE THYMUS TISSUE AND ORGAN CULTURE CONFRONTED WITH ADRENALS

O. Török

The counteractions of embryonal mouse thymus and adrenal of sexually matured mouse were investigated in confronted tissue and organ culture.

Tissue cultivation was carried out with routine method in "H"-flasks, organ cultures were made according to Chen's technique. Methods used for the morphological and cytological evaluation were HE, toluidine blue, aldehyde fuchsine staining and PAS reaction. The author describes the characteristics of growth of tissue and organ cultures, the morphology of cell types, the morphological changes during secretion and phagocytosis. Characteristic zonal distribution was observed in the thymus organ culture confronted with adrenal, where the most remarkable feature the structure and the widening of the outer, thymocytes free zone was, which consisted of reticulocytes.

The peculiar changes observed in the confronted cultures are brought into connection with the corticosteron content of adult adrenal gland and with the changes of that.

BÁZIKUS FEHÉRJÉK ÉS HEPARIN HATÁSA A XENOPUS LAEVIS KORAI FEJLŐDÉSÉRE

NGUYEN KIM DO, U. NAGY ZSUZSANNA és CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1973. november 19-én

Bevezetés

Az utolsó évtized vizsgálatai alapján úgy látszik, hogy bár a savanyú fehérjék szerepe sem zárható ki, a bázikus fehérjék kiemelkedő szerepet játszanak a genetikai aktivitás szabályozásában (Huang, 1970). A bázikus fehérjék közül a hisztonok azok, melyeket legelső sorban vizsgáltak, de hasonló jelentőségűnek látszik a protaminok hatása is (Huang, 1970). Ezek az anyagok a DNS-sel közvetlenül, vagy RNS közvetítésével kapcsolódva blokkolják — represszálják — a genom jelentékeny részét, sőt úgy tűnik, hogy az állandóan működésbe hozható, tehát funkcionális rész szabályozásában is szerepük van. Éppen ellenkező hatásuk van a polianionoknak, melyek valószínűleg erős savi aktivitásuk révén, kötni, illetve leválasztani tudják a hisztonokat, így derepressziót képesek létrehozni (Csaba et al. 1962, Latner et al. 1973). Mindezek alapján feltételezhető, hogy ezen anyagok bejutása a sejtbe — sejt-magba — mélyrehatóan befolyásolja a fejlődő szervezet kialakulását. Kísérleteinkben erre a problémára kerestük a választ.

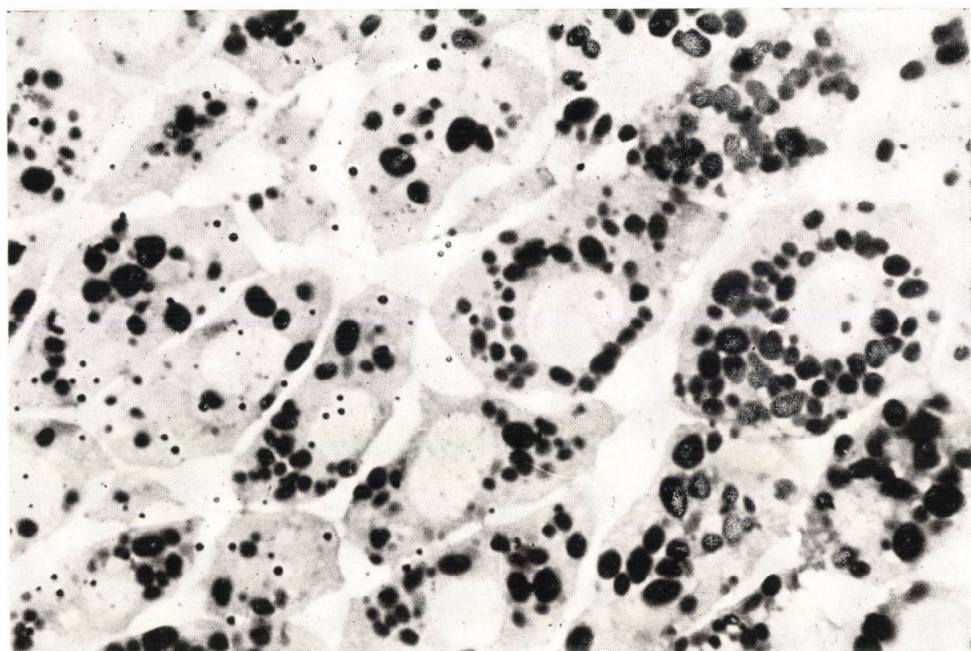
Anyag és módszer

Kísérleteinkben karmosbéka (*Xenopus laevis*) petéket használtunk fel. A peték korát Nieuwkoop és Faber (1956) szerint állapítottuk meg. A kísérletek egyik részében a megtermékenyített *Xenopus* petéket tartalmazó csapvízbe heparint, (Fluka) 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban, protamint (protaminszulfát, Roche) 50 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban, és polylysin (Koch—Light) különböző koncentrációkban adtunk, a hatóanyagokat tartalmazó oldatokat 2 naponként cseréltük, majd az embriók morfológiai és fiziológiai változásait stereomikroszkóp alatt általában 12 napig figyeltük. Ebben a kísérleti sorozatban összesen 418 petén végeztünk megfigyeléseket. A kísérletekhez azért használtunk protamint és polylysin hiszton helyett, mert az utóbbi oldódása igen rossz, és csak nagyon savanyú közegben, tehát csak afiziológiai körülmények között vihető végebe.

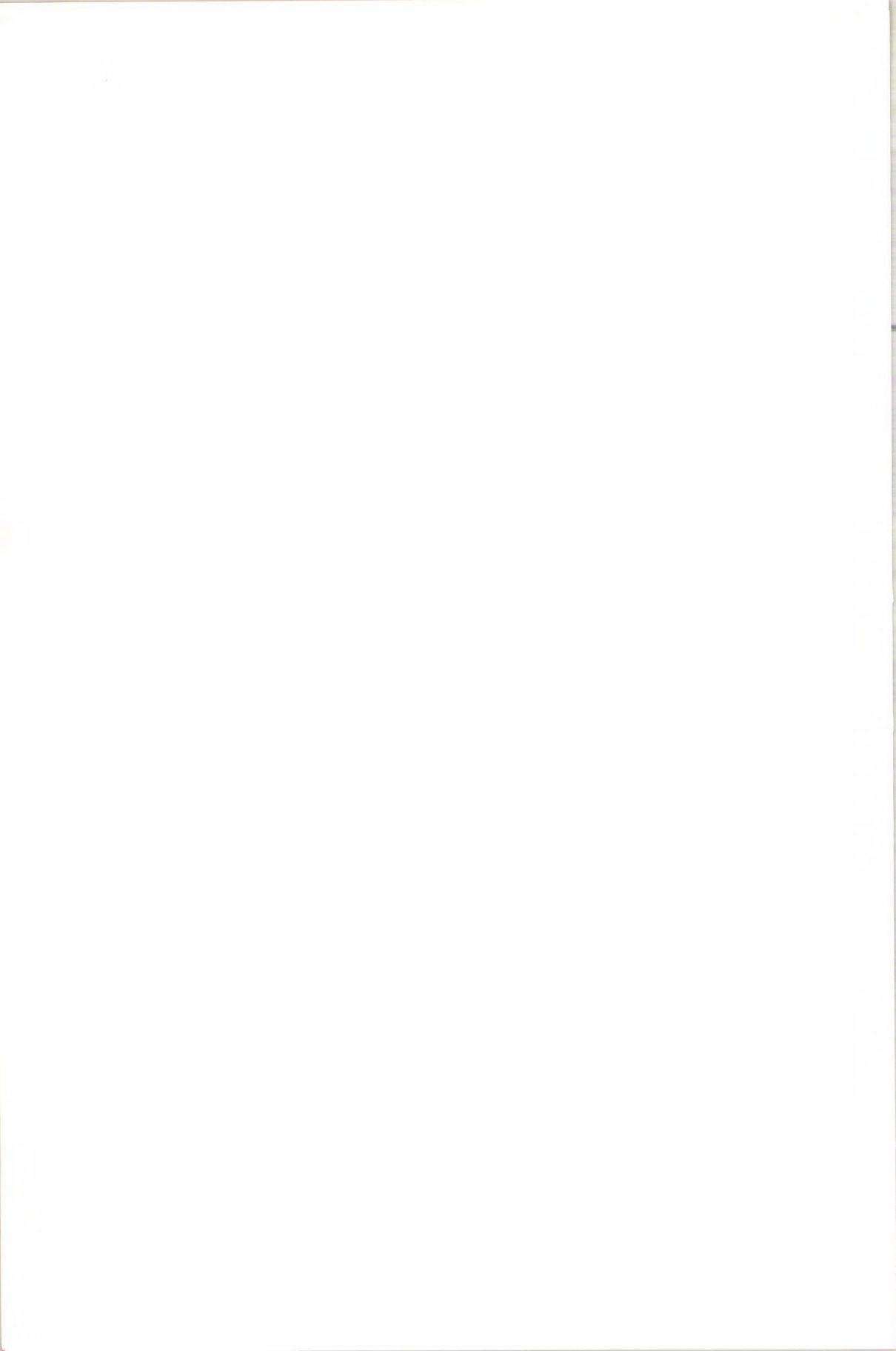
A kísérletek egy másik csoportjában kezdeti gasztrula stádiumban levő *Xenopus* embriók 2 μCi ^3H -protamin szulfátot (C. E. N. — S. C. K. Belgium, spec. act. 5 mCi/mg) kaptak mikropipettával a szikbe fecskendezve. 4 órával a beadás után, az embriókat glutáraldehidben, illetve ozmiumban fixáltuk,

1. táblázat
Heparin és bázikus fehérjék hatása a *Xenopus* embryokra

Csoport	Dózis µg/ml	Állatszám	Stádium a kezelés kezdetekor	Megfigyelési idő	Torzulás %	Pusztulás %	Megfigyelések
1. Heparin	100	60	4—32 sejt	12 nap	—	100	Az embryok duzzadnak. A pusztulás folyamatos. Mind elpusztul a neurula stádiumban. A szik területében kidúrodások keletkeznek.
1/a Kontroll	—	60	—	12 nap	—	5	—
2. Heparin	100	30	35	12 nap	10	33	A pigmentáció erősebb
3. Polylysin	50	30	35	2 óra	—	100	Az embryok teste begörbül
4. Polylysin	25	30	35	2 óra	—	100	Az embryok teste begörbül
5. Polylysin	12,5	30	35	2 óra	—	100	Az embryok teste begörbül, a szemek a normálisnál nagyobbak
6. Polylysin	6,25	30	35	12 nap	100	77	Az embryok teste begörbül, a szemek a normálisnál nagyobbak. Az embryok mérete fele a kontrollénak. A pigmentáció csökkent, a szemek körül lila gyűrű.
7. Polylysin	3,12	30	35	12 nap	15	40	Az embryok teste begörbül. A pigmentáció gyenge. A szem körül lila gyűrű. Az állatok nagysága fele a kontrollénak.
3—7/a Kontroll	—	48	—	12 nap	5	7	A torzulás a test görbeségében mutatkozik meg
8. Protamin	50	30	35	12 nap	25	47	Néhány állaton a farokrész nem fejlődött ki. A pigmentáció gyengébb. Egyes állatok megöregülnek.
8/a Kontroll	—	40	35	12 nap	6	17	A torzulások pigmentzavarban mutatkoznak meg



1. kép. A ^3H protaminszulfát felhalmozódása a fejlődő *Xenopus* petében. A szemcsék lokalizációja citoplazmatikus és nukleáris, de csak a szikben szegény mikromérák felett találhatók meg.



aralditba (Durcupan ACM) ágyasztuk be, és Reichert OMU2 ultramikrotommal félvékony metszeteket készítettünk, melyeket Ilford G5 emulzióval fedtünk és 25 napos expozíció után ORWO A 49 hívóban hívtunk elő, majd alkalikus toluidinékkel festettünk meg.

Eredmények

A) A részletes eredményeket az 1. sz. táblázat szemlélteti.

Heparin hatására a 4–32 sejtés stádiumban levő *Xenopus* morulák kivétel nélkül elpusztultak. Idősebb — 35. stádiumban levő — embryok heparin kezelésekor főleg a pigmentációban észleltünk zavarokat, tetemes pusztulás mellett.

A polyisin igen toxikusnak bizonyult. 50–25 és 12,5 $\mu\text{g/ml}$ -es dózisok alkalmazásakor minden embryo elpusztult, az ezeknél kisebb dózisok is nagyarányú pusztulást eredményeztek. 6,25 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban 100%-ban kóros elváltozások léptek fel, ezen dózis 50%-a számbelileg kevés, de minőségileg hasonló elváltozást eredményezett. Az embryok növekedése retardálódott, a pigmentáció zavart volt. Jellegzetesek voltak a szem, illetve a szem körüli terület elváltozásai.

Protamin hatására jelentős számban léptek fel normálistól eltérő egyedek, a pusztulás kifejezett volt.

B) A ^3H -protaminszulfátot jelző szemcsék kizárólag a mikromérák felett voltak megtalálhatók (1. ábra). Lokalizációjuk nukleáris és citoplazmatikus egyaránt.

Megbeszélés

Brachet (1964) kételtűeken végzett kísérleteiben kimutatta, hogy exogén hiszton gátolja a gasztrulációt, bár a barázdálódást nem befolyásolja. Vorobyev és munkatársai (1968) vizsgálatai szerint is a késői — morfogenetikus — periódusban mutatkozik meg tengeri sünbén a hisztonok hatása, itt is elsősorban az arginin gazdag hisztonoké. Vannak azonban ezzel ellentétes adatok is, így Thaler és munkatársai szerint a lizin gazdag hisztonok a korai fejlődésben fejtik ki hatásukat, míg Kischer és munkatársai (1966) semmiféle hatást nem észleltek csirkeembryokban. Mindezek a kísérletek azonban nem hozhatók közös nevezőre, mert nyilvánvalóan más elbírálás alá esik az endogén hiszton (Thaler és Vorobyev kísérleteiben), melynek mennyiségi változása jelzi a fejlődés folyamán végbemenő történéseket — mint ezt saját magunk (Do és Csaba 1973) is kimutatták — és az exogén hiszton (Brachet és Kischer kísérleteiben), mely pluszként jelentkezik. Az irodalom alapján még az is nehezen dönthető el, hogy egyáltalán bejut-e az exogén hiszton, vagy általában a bázikus fehérje a sejtekbe. Bierbeck és munkatársai (1972) ugyanis kimutatták, hogy a hiszton csak a károsult sejtekbe hatol be, amelyeknek eljut a magjába is, egyébként csak a sejtmembránra ül rá. Ugyanakkor saját korábbi kísérleteinkben a jelzett protamin szulfátot ki tudtuk mutatni tenyésztett vesehámsejtek magjá-

ban. Ez utóbbi észlelést látszik alátámasztani Kolodny (1973) munkája, melyben jelentős elváltozásokról számol be tenyésztett sejtekben hiszton hatására, valamint Raška és munkatársai (1973) kísérletei, melyekben kifejezetten nukleoláris elváltozásokról számolnak be, hisztonnal tenyésztett kultúrákban.

Jelen kísérleteink egyértelműen mutatják, hogy a jelzett protamin az embryo sejtjeibe bejut. Igen érdekes azonban az, hogy csak a makromérákra lokalizálódik. Ez arra utalhat, hogy a makromérákban a genetikai aktivitás bekapcsolódása ekkor még nem történt meg, míg a mikromérákban igen, ezért az utóbbiakban a bázikus fehérjéből deficit van. Lehetséges azonban, hogy a különbség a különböző szikartalomnak tulajdonítható, korábbi kísérleteinkben (Do és Csaba 1973) kimutattuk ugyanis, hogy a bázikus fehérjék a fejlődés kezdeti stádiumaiban a szikszemcsékre lokalizáltak. A makromérákban a szikszemcsék mennyisége nagyobb, tehát valószínűleg a bázikus fehérje is több.

A bázikus fehérjék hatására létrejött elváltozások nem tekinthetők egyértelműleg a morfogenezis zavarának. Az embryo testének begömbölyése, mely elsősorban a polylysin, de a protamin esetében is megmutatkozott, inkább toxikus hatásra bekövetkező reakciónak fogható fel. A szemek — táblázatban jelzett — elváltozása, illetve a pigmentáció gyengülése már inkább tekinthető morfogenetikus zavarnak, és természetesen az a farokrész kifejlődésének elmaradása, vagy az anencephalia. Ezek az elváltozások azonban relatíve ritkábban lépnek fel. Ami teljesen általános, az az embryo nagyságbeli elmaradása egyébként alig zavart fejlődés mellett, mely inkább polylysin esetében volt megfigyelhető. Az egész képből az a következtetés vonható le, hogy az exogén módon juttatott bázikus fehérjék hatására vagy a minden vagy semmi törvénye jellemző: elpusztítják az embriót, illetve az életben maradók épek, vagy mennyiségi jellegű: gátolják a növekedést. A fejlődő pete normális regulációja a bázikus fehérjék jelentős beavatkozását a szabályozó rendszerbe — úgy látszik — kivédi.

A heparin, mint polianion a korai fejlődésben erősen toxikus volt. Későbbi stádiumban alkalmazva kevésbé toxikus, és fokozta a pigmentációt. Ez a hatása nem szokatlan: korábbi kísérleteinkben (Csaba et al. 1962) planáriákban is észleltük. Mindenesetre érdekes, hogy a bázikus fehérjék és a savanyú heparin egymással ellentétes pigment reakciót váltottak ki, ami inkább utal a pH viszonyok jelentőségére, mint egy gén szinten történő hatásra.

Összefoglalás

Sem az exogén protamin, sem a polylysin nem gyakorolt jelentős morfogenetikai hatást a *Xenopus* embryoakra, azonban az embriót elpusztította, és növekedését retardálta. Heparin korai alkalmazásakor az embryo elpusztultak, késői alkalmazásakor a pigmentáció fokozódott. A tritiummal jelzett protaminszulfát a mikromérákba jut be és a magban és a citoplazmában egyaránt lokalizálódik.

IRODALOM

- BIRBECK M. S. D., JONHS E. W., ROBERTSON D., CONEIRO T. A. (1972): Autoradiographie study of the F2 c histone effect on ascites tumour and other cells. *Exp. Cell. Res.*, **75**, 254—260.
- BRACHET J. (1964): Effect of histones on embryonic development. *Nature*, 1218.
- CSABA G., TÖRÖK L., J., TÖRÖK G., ÁCS T., BIERBAUER J., MOLD K., HORVÁTH J. (1962): Destabilizing effect of heparin on biological systems. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **12**, 271—285.
- DO N. K., CSABA G. (1973): Histochemical examination of histones in early phases of the development of Amphibia. *Z. mikr. anat. Forsch.* **87**, 57—64.
- HUANG P. C. (1971): DNA, RNA and protein interactions. *Progr. in Biophys. and. Mol. Biol.*, **23**, 103—144.
- KOLODNY G. M. (1973): Histone mediated changes in morphology and confluent density of cultured cells. *J. Cell. Physiol.*, **81**, 233—240.
- KISCHER C. W., CURLEY C. R., SHEPHERD G. R. (1966): Nuclear histones and early embryogenesis of the chick. *Nature*, **212**, 304—306.
- LATNER A. L., LONGSTAFF E., LUUN J. M. (1973): Influence of histones on nuclear size. *Nature New Biology*, **243**, 107—109.
- NIEUWKOOP P. D., FABER, J. (1956): Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin) North. Holland Publ. Co. Amsterdam.
- RAŠKA I., RERABKOVÁ E., HOREJSI J., SMETANA, K. (1973): Effect of histone on the nucleolar morphology of cells cultured in vitro. *Z. Zellforsch.*, **138**, 273—282.
- THALER M. M., COX M. C., VILLEE J. A. (1970): Histones in early embryogenesis: developmental aspects of composition and synthesis. *J. Biol. Chem.*, **245**, 1479—1483.
- VOROBYEV V. I., GINEITIS A. A., KOSTILEVA E. I., SMIRNOVA T. A. (1968): Deistvie gistonov na rannie staidii embryonalnogo rasvitiya morskogo azka. *Cytologia* (Moszkva), **10**, 487—493.

ВЛИЯНИЕ ОСНОВНЫХ БЕЛКОВ И ГЕПАРИНА НА РАННЕЕ РАЗВИТИЕ *Xenopus laevis*

Н. К. До, Ж. У. Надь и Дь. Чаба

Ни экзогенный протамин, ни полилизин видимо не влияет на морфогенез эмбрионов лягушек, но убивает эмбрионы и задерживает их рост. Применение гепарина в ранних стадиях приводит к гибели эмбрионов, а в поздних стадиях усиливает пигментацию. Протаминсульфат, меченный тритием, попадет в микромеры и одинаково выявляется в ядре и цитоплазме.

EFFECTS OF BASIC PROTEINS AND HEPARINE ON THE EARLY DEVELOPMENT OF *XENOPUS LAEVIS*

N. K. Do, S. U. Nagy and G. Csaba

Neither exogen protamin nor polylysin had significant effect on the morphogenesis of *Xenopus* embryos however the embryos were destroyed and their growth was retarded. At the early administration of heparine the embryos died and at the late administration of that the pigmentation increased. The tritium labelled protamin sulphate penetrates into the micromeras and can be localized in the nucleus as well as in the cytoplasm.

ADATOK AZ ELŐBÉL ENTODERMA ÁLTALÁNOS JÓDFELVEVŐ KÉPESSÉGÉHEZ

U. NAGY ZSUZSANNA és CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1973. november 19-én

Ismeretes, hogy a fejlődés folyamata a determinációs és realizációs tényezőknek, illetve ezek egymásrahatásának felel meg. A determináció után a differenciálódás folyamata fokozatosan halad (1). A determináció még nem jelent morfológiai és funkcionális változást, a differenciálódás mind morfológiailag mind funkcionálisan specializálódott sejteket eredményez. A differenciálódás közben tehát a gének jelentékeny része látszólag irreverzibilis represszióba kerül (2). Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy egyrészt a represszált potenciák (gének) egyrésze előhívható, másrészt, hogy bizonyos tulajdonságok az embrionális telepek sokkal nagyobb területére jellemzőek, mint amennyiben ténylegesen manifesztálódnak. Így kimutattuk, hogy az előbél általában képes bizonyos aminok termelésére (4), illetve hogy a jódfelvétel sem csak a pajzsmirigyre jellemző, mert például az újszülött állat thymusa ötvenszer annyi jódot vesz fel mint a felnőtté és ez volumenében megközelíti a pajzsmirigy jódfelvételét (3). Jelen kísérletünkben választ keresünk arra, hogy a csaknem teljesen érett embriókban a közös csíralemezből eredő szervek milyen mértékben képesek a jódot felvenni. Ez a képesség ugyanis születés után a kor előrehaladtával egyre inkább csak a pajzsmirigyhez kötött. Éppen ezért kísérletünkben az anya pajzsmirigyét a radiojód beadása előtt eltávolítottuk, hogy így elkerüljük az izotóp kiszűrését a keringésből. Ennek a módszernek alkalmazásával reméltük, hogy az anyának beadott jódot a magzat veszi fel, amit az anya thyroxin deficitje is provokálhat.

Anyag és módszer

2 db 250 grammos 14 és 18 napos terhes Wistar CB. patkányon pajzsmirigy irtást végeztünk felületes éteres narkózisban. A bőr felnyitása után a glandula submaxillárist félretolva a gégét borító izomzatot megnyitottuk. A gége két oldalán elhelyezkedő pajzsmirigyeket tokostól eltávolítottuk, a vérzéscsillapítás felszívódó fibrinszivacs alkalmazásával történt. A műtétet követő napon mindkét anya 125 μ Ci 125 I-t kapott i.v., majd a 15. napos terhestől 2^h és a 19. napos terhestől 24^h múlva éteres túlaltatás után a magzatokat Bouin-oldatban rögzítettük, paraffinba ágyaztuk és a gerincoszlop mélységében cranio-caudális irányú egésztest metszeteket készítettünk, melyeket

autoradiográfia céljára Ilford K-5 emulzióval fedtünk le, 22 napos expozíció után ORWO A-49-ben hívtunk elő, majd haematoxinin eoizzinnal festettünk meg.

Eredmények

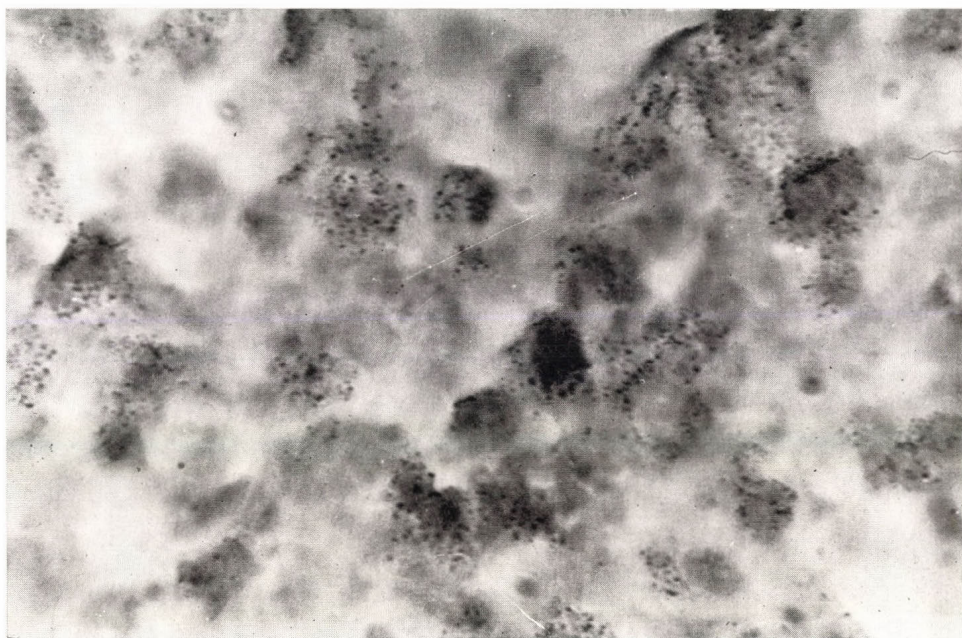
A jódbeadást követően 2^h múlva kivett magzatban jelentős aktivitást találtunk a tüdőmezők felett. A felvett jód eloszlása nem egyenletes, hanem sejtekre lokalizált (1. ábra). A magzat pajzsmirigye felett viszont elvétele lehetett csak szemcséket találni (2. ábra). A 19. terhességi napon kezelt anya magzataiban csak a pajzsmirigyben volt aktivitás.

Megvitatás

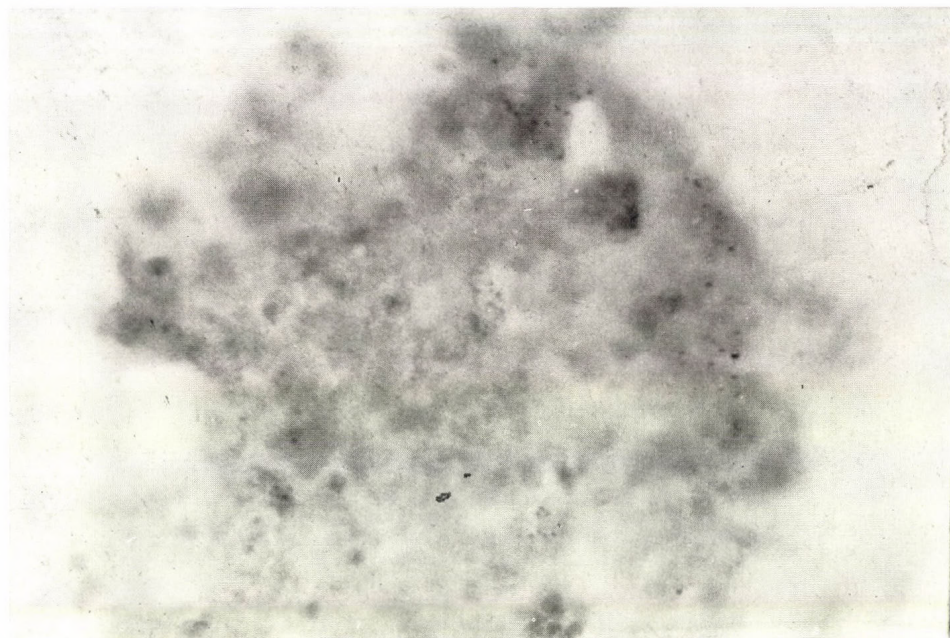
A magzat kifejlődése során a szervek a három csíralemez megfelelő helyéből alakulnak ki. Az entodermából keletkező szervek közé tartoznak többek között: a pajzsmirigy, thymus, mellékpajzsmirigy, a gége, a légcső és a tüdő hámja. Ezek a szervek szorosabban véve az előbél ventralis falából származnak. A pajzsmirigy a törzsfejlődés folyamán jód akkumulációs képességekre tett szert, erősen differenciálódott specializált funkciójú szervvé fejlődött. Korábbi munkáinkban közölt eredmények bizonyítani látszanak azt a tényt, hogy azon epitheliumok melyek a szomszéd areákból fejlődtek szintén megőriznek valamennyit a jód inkorporációs képességükből, vagyis úgy látszik, hogy a jódfelvétel általános képessége az előbél entodermának. Az egyes szervek jódfelvételének mennyiségi differenciái a fejlődés korai szakaszaiban egyre csökkenni látszanak, bár ez a jódfelvételi képességük új környezetbe jutva fokozottabban jelentkezik. Ezt támasztja alá későbbi munkánk is, amelyben patkány embriók tracheáját kifejlett állatok lépébe ültetve azt találtuk, hogy a hámsejtek igen aktívan akkumulálták a jódot (3, 5). Minthogy a pajzsmirigy és a tüdőtelepek is az előbél ventralis részén jelennek meg, feltehető volt, hogy a tüdő sejtjeinek jódfelvevő képessége korai magzati korban még kimutatható. Jelen kísérletünkben a jódot a tüdő sejtjei valóban felvették, azonban — tekintve hogy a tüdő jellegzetes struktúrája ekkor még nem alakult ki — azt, hogy a jódot jelző ezüst szemcsék tüdő hámsejtekben láthatók, a preparátum alapján egyértelműen nem lehetett eldönteni. Az viszont, hogy a pajzsmirigy jódfelvevéle kismértékű, magyarázható lenne azzal, hogy normális esetben az anya hormonjai a magzat szükségleteit teljesen kielégítik és így a magzat endokrin mirigyei a méhen belüli életben nem feltétlenül játszanak szerepet. Számításba vehetjük még azt is, hogy a magzat belsőszekréciós mirigyei és szervei (így a tüdő is) a méhen belüli életben szöveti szerkezetüket tekintve nagy átalakuláson mennek keresztül, így nem lehetetlen, hogy a magzati életben funkcionálisan másként viselkednek, mint születés után.

Összefoglalás

Autoradiográfias módszerrel kimutatható volt, hogy a patkány embriók tüdősejtjei nagy mennyiségű ¹²⁵I-t vesznek fel.



1. kép. Patkány embrió tüdő. A jóid a sejtek cytoplazmájában helyezkedik el. H.E. 320 ×



2. kép. Patkány embrió pajzsmirigy. A sejtek fölött csak elvétve lehet szemcséket találni.
H.E. 320 ×

IRODALOM

1. TÖRŐ I., CSABA G. (1964): Az ember normális és patológiás fejlődése. Akadémiai Kiadó, Budapest.
2. CSABA G., ÁCS T. (1970): Gondolatok az endokrin rendszer néhány biológiai problémájáról. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, 13.
3. CSABA, G., KISS, J., NAGY, S. U. (1973): Comparative Studies on the ^{125}I Uptake of the Thyroid and Thymus. *Experientia*, **29**, 357.
4. CSABA, G., BOMBERA, G., MÁNDICS, R. (1973): Provocation of biogenic amin production in the foregut entoderm by hormone induction. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **87**, 351—356
5. CSABA, G., U. NAGY, Zs., BOMBERA, G., MÁNDICS, R. (1974): Iodine accumulating ability as generalized property of cells of endodermal origin. *Endocrin. Experiment.*, In press

ДАННЫЕ ОБ ОБЩЕЙ СПОСОБНОСТИ НАКАПЛИВАНИЯ ЙОДА ЭНТОДЕРМОЙ ПЕРЕДНЕГО КИШЕЧНИКА

Ж. У. Надь, Дь. Чаба

При помощи авторадииографии выявили, что клетки легких эмбрионов крыс накапливают большое количество меченого йода (I^{125}).

RESULTS ON THE SYSTEMIC IODINE UPTAKE CAPABILITY OF FOREGUT ENTODERM

S. U. Nagy and Gy. Csaba

Uptake of high amount of ^{125}I in the lung cells of rat embryos was shown by autoradiographic method.

AZ IDEGENTEST ÓRIÁSSEJTEK VIZSGÁLATA A BÉKA (*RANA ESCULENTA*) THYMUSÁNAK SZÖVETTENYÉSZETÉBEN

KAPA ESZTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1973. november 19-én

Bevezetés

Langhans 1868-ban írt le először óriássejteket. A későbbiekben ilyen sejteket számos különböző állatfajban megfigyeltek (18, 1, 10, 11). Az óriássejtekre vonatkozó megfigyelések mind normál, mind pathológiás állapotban levő lymphoid szövetre vonatkoznak.

Néhányan arról tettek említést, hogy az óriássejtek a thymusban is előfordulnak (18, 15, 4). Ezeket a vizsgálatokat azonban kizárólag emlősállatok thymusával végezték. A thymus hámnak azt a képességét írják le, miszerint ezek a sejtek intra- és extracellularis emésztést is folytathatnak. Megjegyzik, hogy a hámsejtek működésük során többféle alakban jelennek meg és az óriássejt az egyik megjelenési forma. Papadimitriou (11) scanning elektronmikroszkóppal végzett vizsgálatai szerint egérben a monocyták óriássejteké alakulhatnak.

Kísérleteinkben célul tűztük ki a nyirokesomóval nem rendelkező poikilotherm állatokban — jelen esetben a békában — az idegentest óriássejtek experimentális vizsgálatát. Ezek a sejtek a béka thymusában ritkán találhatók (6, 7, 8, 12), ezért kísérletes körülmények között provokáltuk a béka thymusában az idegentest óriássejtek kialakulását.

Anyag és módszer

Kísérleteinkben 100 db *Rana esculenta* thymusát dolgoztuk fel. Az állatok testhossza 80—100 mm volt. Leölésük decapitálással történt. Thymusait szövettenyésztetbe vittük, Maximow-féle függőcepp kultúrákat készítettünk, illetve H-csőben tenyésztettük. Tenyésztő felületként minden esetben agarral bevont nylonhálót használtunk, táptalajul a csiga (*Helix pomatia*) köpeny üregéből nyert „hidegvérű Ringer” oldattal felére hígított lymphát használtunk.

1. A táptalajhoz trypankék oldatot adtunk 1:100 000 hígításban Muhlethaler, ill. Nebel és Hamburg, Johnson és Chepnik szerint (12, 13, 5). Módosításként a trypankéket Holtfreter-oldatban, ill. a csiga (*Helix pomatia*) köpenyüregéből nyert lymphában hígítottuk.

2. 50 állatnak intraperitonealisan adtunk hidegvérű Ringerben készített 1%-os trypankék oldatot, 2 ml/100 g testsúly mennyiségben. Az állatokat az injektálás után 1—3 órával leöltük, és thymusukat szövettenyésztetbe vittük.

Mindkét kísérleti csoportban a kétéltűekre jellemző 8,4–8,5 pH-t mind savas, mind lúgos irányban változtattuk pH 7,0-től pH 10,0-ig úgy, hogy a tenyésztő közeghez normál sósavat, ill. NaOH-t adtunk.

A szövetkultúrákban levő óriássejteket *in vivo*, valamint fixált, natív készítményben és Giemsa szerint festett készítményben vizsgáltuk. A sejtek legnagyobb átmérőjét mértük és ennek alapján, valamint a cytoplasmájukban felhalmozott (phagocytált) trypankék szemcsék gyakorisága szerint csoportosítottuk azokat. Ezen kívül sejtszámolást is végeztünk korábban leírt módszer alapján (4, 5). Valamennyi pH esetben 50–50 kultúra növekedési zónájában számoltuk meg a sejteket, a sejtszámolást egymás melletti látóterekben végezve. A jelen kísérleti elrendezésben minden pH esetben összesen 8700 sejtet számoltunk meg.

Minden kísérleti csoporthoz azonos számú kontrollt készítettünk és azokban is az említett módon számoltuk meg a sejteket.

Eredmények

Kísérleteinkben azokat a sejteket értékeltük idegentest óriássejteknek amelyeknek cytoplasmájában — ez mikroszkópban jól kivehető — nagyobb mennyiségű trypankék szemcsét találtunk.

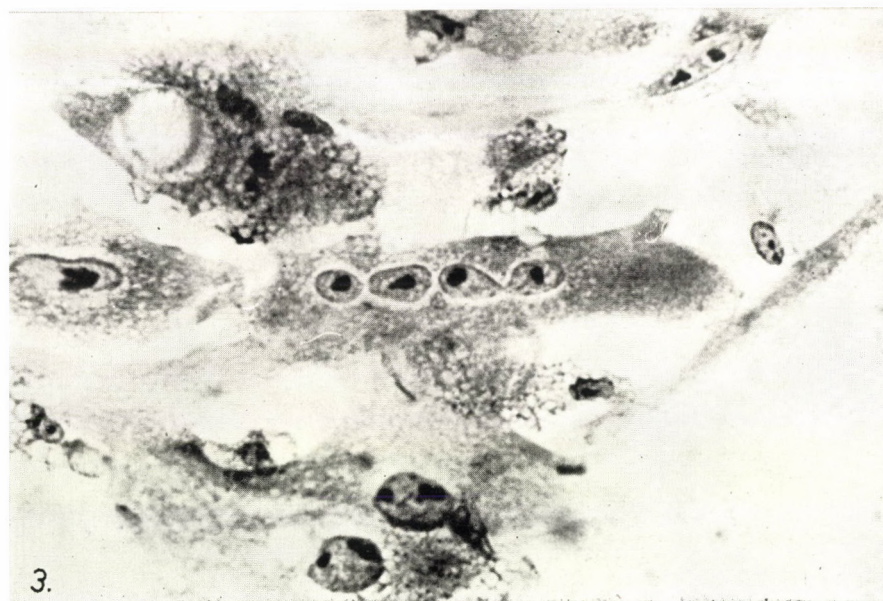
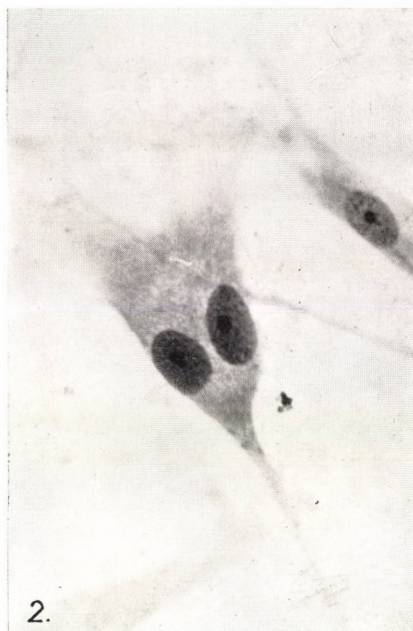
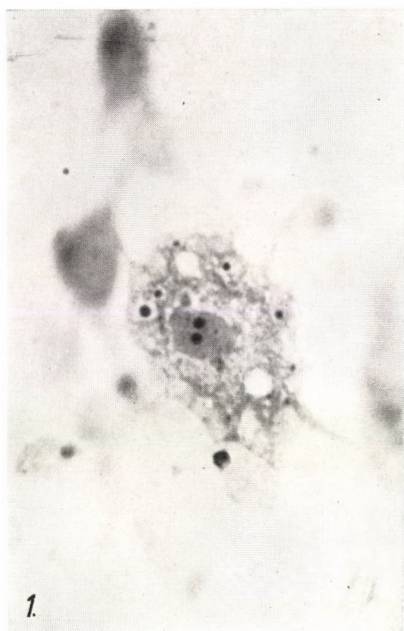
Az *in vivo* és az *in vitro* adott trypankék hatására a béka thymusának szövettényészetében óriássejtek kialakulását figyeltük meg. Az óriássejtek nyúlványosak, cytoplasmájukban különböző nagyságú vacuolumok vannak, amelyekben trypankék szemcsék találhatók (I. ábra). A sejtmagok száma ezekben a sejtekben lehet egy-kettő, azonban megfigyelhetők multinuclearis óriássejtek is. A kísérleti csoportban megfigyelt óriássejtek nagysága 22–48 μ .

A kontroll kultúrákban az óriássejtek nagyon ritkán figyelhetők meg, ezeknek az alakja jelentősen nem tért el a kísérleti csoport thymusaiban található hasonló sejtek alakjától. A kontroll kultúrákban azonban csak egy, legfeljebb két magvú óriássejtek találhatók (2. ábra). A kontroll kultúrákban az óriássejtek általában kisebbek is voltak (12–18 μ), továbbá az óriássejtek száma is kevesebb volt, mint a trypankékkal kezelt béka thymusából készített szövettényészetben (3. ábra). Az óriássejtek száma 8700 sejtől 5–8.

Amint az 1. sz. táblázatból kitűnik, mind az *in vitro*, mind az *in vivo* trypankékkal kezelt és tenyészetbe vitt béka thymusában az óriássejtek

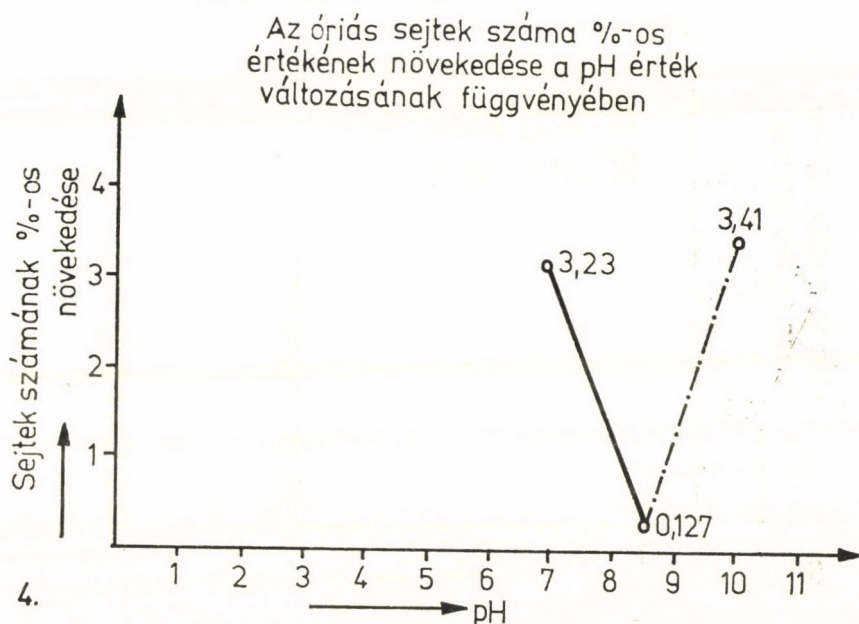
1. táblázat
A pH viszonyok hatása a béka óriássejtjeire
in vitro viszonyok között

Alkalmazott pH	Az óriássejtek nagysága	Az óriássejtek száma 8700 sejtől		Multinuclearis óriássejtek száma	
7,0	24–38 μ	280	3,23	112	(40%)
7,5	22–24 μ	12	0,137	0	
8,0	22–24 μ	12	0,137	0	
8,5	22–24 μ	12	0,137	0	
9,5	22–24 μ	12	0,137	0	
9,5	22–28 μ	15	0,172	0	
10,0	28–48 μ	300	3,41	128	(42,6%)



1. ábra. Idegentest óriássejtek a trypán-kékkel kezelt *Rana esculenta* thymusából. A vacuolizáltcytoplazmában trypán-kék szemcsék találhatók. Natív készítmény. Nagyítás $400 \times$
2. ábra: Binucleáris óriássejt a *Rana esculenta* thymusából készített szövettényészetben. Bartha f. hematoxin festés. Nagyítás $945 \times$
3. ábra. Multinuclearis óriássejtek a *Rana esculenta* thymusában. A magok elhelyezkedése, kapcsolódása amitotikus osztódásra utal. A sejtek elhelyezkedése lemezszerű. Bartha f. hematoxin festés. Nagyítás $945 \times$

méretei változtak. A sejtek nagysága általában növekedett. A kétélűekre jellemző pH 8,5 esetében a sejtek nagysága 22–24 μ volt. A megszámlált 8700 sejt között 12 óriássejtet találtunk, ez az összsejtszám 0,137%-a, multinuclearis óriássejt nem fordul elő. A pH elmozdítása lúgos irányban pH 9,0-re, majd pH 9,5-re a sejtek méretbeli növekedésével járt. Növekedő tendenciájú változást észleltünk a sejtek számában, amely az összsejtszám 15%-a lett, multinuclearis óriássejt azonban nem fordult elő. A továbbiakban a pH-t öt tizeddel, növelve a változás jelentős. Igen számottevően növekedett a sejtek nagysága: 28–48 μ . Jelentősen nőtt az óriássejtek száma is, 8700 megszámlolt sejtől 300, vagyis az összsejtszám 3,41%-a óriássejt. Az óriássejtek között

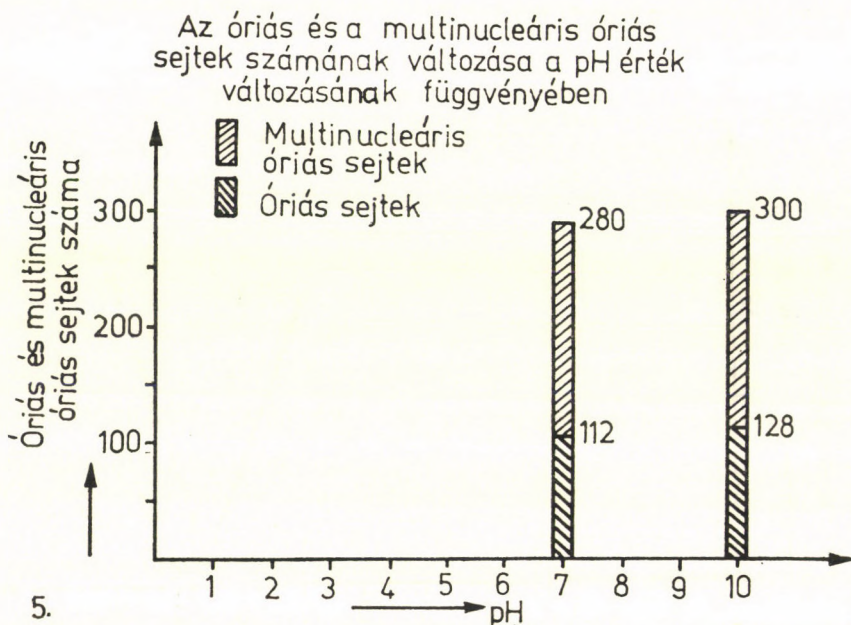


4. Grafikus ábra az óriássejtek száma és a tenyésztő közeg pH értéke összefüggésének ábrázolására

új típus tűnt fel, a multinuclearis óriássejt, a 300 óriássejt közül 12, tehát 40%. Ezt követően a pH érték csökkentése pH 8,0-ra azt eredményezte, hogy az óriássejtek mérete és száma elérte a kiindulási értékeket, multinuclearis óriássejt a tenyészetben nem volt. Nem volt változás a pH-t 8,0-ról 7,5-re csökkentve. De úgy találtuk, hogy a pH további öt tizeddel történő csökkentése pH 7,5-ről pH 7,0-re ismét jelentős változásokhoz vezetett. Az óriássejtek méretei jelentősen növekedtek: 24–38 μ , számottevően nőtt az óriássejtek száma is, 8700 sejtől 280, vagyis 3,23%. Ismét megjelentek a tenyészetekben a multinuclearis óriássejtek, 280 óriássejt közül 112, vagyis 40% ezeknek a sejteknek a száma (4. ábra).

Megvitatás

A felnőtt béka (*Rana esculenta*) thymusában trypankék hatására idegentest óriássejtek alakultak ki. Szövettenyésztésben a tenyésztő közeg pH-ját a kétéltűekre jellemző pH 8,5-től savas vagy lúgos irányban változtatva, az óriássejtek nagysága növekszik. A kontrollhoz képest nemcsak nagyobb méretű és számú óriássejtet észleltünk, hanem az óriássejtek új típusát is megfigyeltük, a multinuclearis óriássejtet. A multinuclearis óriássejt megjelenése szoros kapcsolatban van a tenyésztő közeg pH-jával. Az általunk alkalmazott szélsőségesen savas vagy lúgos (pH 10,0; pH 7,0) pH mellett



5. Grafikus ábra az óriássejtek és a multinuclearis óriássejtek száma és a tenyésztő közeg pH értéke összefüggésének ábrázolására.

találtuk a legnagyobb méretű sejteket, és elsősorban ezek között vannak a multinuclearis óriássejtek (5. ábra). Ezeknek a sejteknek a nagysága 28–48 μ között változik. Az egérben megfigyelt hasonló típusú sejteket Papadimitriou (14) 80–200 μ nagyságúnak írja le. Tehát megállapítható, hogy a poikilotherm szervezetekben a homiotherm élőlényekhez hasonlóan ennek a sejttypusnak nagysága igen tág határok között mozog.

Barta (2, 3) véleménye szerint az óriássejtek kialakulásának elsőrendű oka az oxigénéltelenség. Rottino és Hollender (17) álláspontja szerint az óriássejtek megjelenése metabolikus változások eredménye. Szerintük a metabolikus változások elsőrendű okai a megváltozott pH viszonyok. Ezt az elképzelést támasztják alá Weiss és Fawcett (20), valamint Rabinovitch (16) adatai is, akik szerint az óriás és fagocytáló sejtek megjelenését a táplálkozási

körülmények jelentősen befolyásolják. Az említett szerzők úgy vélik, hogy a fokozott osztódás és az alacsony pH egyes sejteket, így pl. az epitheloid sejteket átalakulásra készítetik.

Kísérleteinkben a béka thymusában kialakuló óriássejtek — egy-két magvú és multinuclearis — mint idegentest reakció jelennek meg. A trypankék az idegentest, amelynek jelenlétében az óriássejtek láthatóvá válnak. Az óriássejtek kialakulását azonban pH viszonyok megváltozása jelentősen befolyásolja.

Az óriássejtek, különösen a multinuclearis óriássejtek kialakulása a béka thymusában figyelemre méltó jelenség. Törő (19) a homoiotherm gerincesek thymusában a hámréticulum histophysiologiai sajátosságait részletesen analizálva megállapította, hogy a magasabb rendű gerincesek thymusából készített implantatumokban megfigyelhető a reticulumsejtek hajlama a syncytioplasmodialis óriássejt képzésre. Úgy véljük, hogy a poikilotherm gerinceseknek — a békának — thymusában az idegentest óriássejtek hasonló módon jöttek létre. A sejtek a környezetükben juttatott vitalis festéket accumulálták és ezután jött létre a sejtfúzió. A poikilotherm állatok, közelebből a kétéltűek, a béka, nyirokcsomóval nem rendelkeznek. A thymusban megjelenő idegentest óriássejtek pedig olyan sejtfarmák, amelyek elsősorban az emlősellatok thymusában és nyirokcsomóiban találhatók. A kétéltűekben a thymus reticulum a fejlődés során — histophysiologiai sajátosságait tekintve — ezért úgy viselkedik, mint az emlősellatokban a thymus reticulum és a nyirokcsomók reticulum sejtjei. Külön érdekességként még megemlíjtük, hogy bár a multinuclearis óriássejtek a trypankék hatására alakulnak ki, ők azonban cytoplasmájukban ezt az anyagot nem tartalmazzák.

Összefoglalás

Béka thymusában az *in vivo* és *in vitro* beadott trypankék hatására idegentest óriássejtek alakulnak ki. A kétéltűekre jellemző 8,5 hidrogenionkoncentrációt savas vagy lúgos irányban változtatva növekszik az óriássejtek nagysága és megjelennek a multinuclearis óriássejtek. A legjelentősebb változásokat a szélsőségesen savas, vagy lúgos (pH = 10,0; pH = 7,0) értékeknél észlelhetjük.

IRODALOM

1. BAITSELL, G. A. (1924) Giant cells in cultures of amphibian tissues. *Anat. Rec.*, **29**, 105—106.
2. BARTA, E. (1926) Les cellules géantes dans les cultures de tissus en rapport avec l'oxidation cellulaire et la formation de graisse intracellulaire. *Compt. rend. Soc. Biol. Paris*, **94**, 1182—1184.
3. BARTA, E. (1926) A deficient oxidation as a cause of giant cell formation in tissue cultures of lymph nodes. *Arch. Exp. Zellforsch.*, **2**, 6—30.
4. EMMART, E. W. (1936) A study of the histogenesis of the thymus *in vitro*. *Anat. Rec.*, **66**, 59—73.
5. JOHNSON, E. M., CHEPNIK, K. P. (1966) Effects of trypanblue on the uptake of tritiated uridine by embryonic rats and their associated membranes. Proc. 6.14. Ann. Meeting Amer. Terat. Soc., Corpus Christi Texas.
6. KAPA, E. (1963) Histological and histochemical analysis of the thymus in tailless amphibians. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, **12**, 1—8.

7. KAPA E. (1967) Különleges sejttípusok a felnőtt béka (*Rana esculenta*) thymusában. Magyar Biológiai Társaság Általános Biológiai szakosztályának hírei 149—150.
8. KAPA, E., LANTOS, T., CSOBÁLY, S. (1968) In vitro examination of macrophages in thymus of adult frogs. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, **19**, 498—499.
9. KAPA E. (1970) A thymus szerkezetének néhány problémája a különböző állatok thymusán végzett vizsgálatok alapján. Kandidátusi értekezés.
10. LEWIS, W. H. and WEBSTER, L. T. (1921) Giant cells in cultures from human lymph nodes. *Jour. Exp. Med.*, **33**, 349—360.
11. LEWIS, W. H. and LEWIS, M. R. (1925) The transformation of leucocytes into macrophages, epithelioid cells and giant cells in cultures of pure blood. *Amer. J. Physiol.*, **72**, 196. Abstr.
12. MUHLETHALER, I. P. (1952) Quelques observations eur les cultures in vitro en présence de blue de trypan. *Acta Anat.*, **15**, 156—176.
13. NEBEL, L. and HAMBURGH, M. (1966) Observations on the penetration and uptake of trypan blue in embryonic membranes of the mouse. *Z. Zellforsch.*, **75**, 129—137.
14. PAPADIMITRIOU, J. M. and JUDY-MARY FINLAY JONES, M. N. J. WALTERS (1972) Surface characteristics of macrophages, epithelioid and giant cells using scanning electron microscopy. *Exp. Cell. Res.*, **76**, 353—362.
15. POPOFF, N. W. (1927) The histogenesis of the thymus as shown by tissue cultures. *Arch. Exp. Zellforsch.*, **4**, 395—418.
16. RABINOVITCH, M. and MARY Jo DE STEFANO (1973) Macrophage spreading in vitro. I. I. Inducers of spreading. *Exp. Cell. Res.*, **77**, 323—334.
17. ROTTIONO, A., HOLLENDER, A. (1949) In vitro studies of lymph nodes involved in Hodgkin's formation behaviour and significance of the multinucleated giant cells. *Arch. Pathol.*, **47**, 328—334.
18. SALKIND, J. (1915) Contributions histologiques a la biologie comparés du thyme. *Arch. de Zool. experimentale*, **55**, 89.
19. TÖRÖ I. (1955) A csecsemőmirigy histophysiológiája. Debreceni Orvostudományi Egyetem tudományos üléseinek 1954—1955. Évkönyve.
20. WEISS, L. P., FAWCETT, D. W. (1953) Cytochemical observations on chicken monocytes, macrophages and giant cells in tissue culture. *J. Histochem. Cytochem.* **1**, 47—65.

ИЗУЧЕНИЕ ГИГАНТСКИХ КЛЕТОК ЧУЖЕРОДНОГО ТЕЛЫЦА В ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ ТИМУСА ЛЯГУШЕК (*Rana esculenta*)

E. Kana

Под влиянием трипанового синего, введенного in vivo или in vitro, в тимусе лягушек появляются такназываемые чужеродные гигантские клетки. Изменяя характерную для амфибии — pH 8,5 — в кислом или щелочном направлении, гигантские клетки увеличиваются и появляются многоядерные клетки. Изменение больше всего выражены в чрезмерно кислой (pH 7) и чрезмерно щелочной (pH 10) среде.

INVESTIGATIONS ON FOREIGN BODY GIANT CELLS IN THE TISSUE CULTURE OF FROG (*RANA ESCULENTA*) THYMUS

E. Kapa

Trypan blue administration in vivo as well as in vitro results in development of foreign body giant cells in frog thymus.

Altering the pH 8.5, characteristic for amphibians, toward acidic or alkaline directions the size of giant cells are increasing and the multinuclear giant cells appear. The most significant changes can be observed at extremely acidic or alkaline pH values (pH 10.0; pH 7.0).

HORMONOK HATÁSA A TETRAHYMENA PYRIFORMIS PHAGOCYTOSISÁRA

LANTOS TIBOR és CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1973. december 5-én

Bevezetés

Az egysejtűek szervező rendszereinek alapját képező finomabb mechanizmusokról meglehetősen keveset tudunk. KOSTOJANC (18) és több más kutató feltételezi, hogy az egysejtűekben észlelt ingerületi reakciók és a többsejtűek idegi működésének fiziológiai alapja igen hasonló. Szerinte az idegműködés alapvető jellemvonásai már az egysejtűek állattörzseiben is megtalálhatók, és a sejt ezen általános tulajdonsága továbbfejlődve hozta létre az idegfiziológiai mechanizmusokat. Hasonlóan feltételezzük, hogy a sejten belüli vegyi szervezés megjelenhet az egysejtűekben és elvezethet a magasabbrendűekben a belső elválasztású mirigyek rendszeréhez kapcsolódó hormonális szabályozáshoz. Az idegrendszer nélküli szervezetekben feltételezhető ezen utóbbi vezérlő rendszer (szabályozó rendszer) fokozott fontossága. A probléma tisztázásának egyik útja chemikáliák, hormonális szerek hatásának vizsgálata az egysejtűekben és a kapott eredmények egybevetése azok ismert, magasabbrendű szervezetekre gyakorolt hatásával.

Feltételezhető, hogy az egysejtűek is rendelkeznek olyan receptorokkal, amelyek segítségével egyes, csak magasabbrendűekben levő hormonokra, vegyi szabályozásban szereplő anyagokra reagálni képesek. Erre vonatkozólag ismerünk vizsgálatokat, így tudjuk, hogy az acetilcholin (17) és a trijódthyronin (3) az egysejtűekben is specifikus hatású. Korábbi vizsgálatainkban az acetilcholin—cholinesterase rendszer működését figyeltük meg (20) *Tetrahymenában* és *Parameciumban*, SANDERS és NATHAN (23) pedig kísérleteiben megállapította, hogy az antihistaminok gátolják a *Tetrahymena* növekedését. Ez a hatás egyebek közt histamin adagolásával felfüggeszthető.

Az általunk felvetett kérdések a receptorok szelektivitásának vizsgálatát érintik. A hormon lehet közvetlenül a sejtmagra ható, érvényesülhet az adenylcyclase-rendszeren keresztül vagy valamely ismeretlen receptor révén fejtheti ki hatását. Kísérleteinkben választ kerestünk arra, hogy a *Tetrahymena* a biogén aminokra, az aminosav típusú hormonokra és egy polipeptid hormonra szelektíve reagál-e?

Anyag és módszer

Kísérleteinkben először három szöveti hormon: a histamin, a serotonin és a 3-indolil-ecetsav hatását vizsgáltuk a *Tetrahymena pyriformis* GL phago-

cytosisára. E hormonok kiválasztásának szempontjai: viszonylag egyszerű szerkezetűek (1); a phylogenesis alacsony fokán megjelennek (10, 12); széles körben fellelhetők; a 2 állati hormon a magasabbrendűekben sok tekintetben azonos reakciót vált ki (6, 8, 10); az egyik állati és a növényi hormon viszont szerkezetében hasonlít egymásra (1) s azonos alapmolekulából származik.

A továbbiakban más, aminosav típusú hormonok hatását vizsgáltuk a *Tetrahymena* phagocytosisára. Ezek a hormonok: a thyroxin, a monoiod-tirosin, a diiod-tirosin, a triiodthyronin, valamint az adrenalin voltak, a polipeptid hormonok közül az inzulin hatását vizsgáltuk.

Vizsgálatainkban *Tetrahymena pyriformis* GL törzsének 0,05%-os élesztőkivonatot tartalmazó, 1%-os Bacto-Trypton tápoldatban tenyésztett 2 napos egyedeit használtuk fel. Az állatokat a kísérlet előtt 24 órával a tápoldatból centrifugálással kimostuk és ettől kezdve fizioológias, Losina-Losinskij-oldatban (22) tartottuk.

Hat különböző időpontban azonos módon elvégzett kísérletben a vacuolum-mentes *Tetrahymenákat* az alkalmazott szerek különböző molaritású oldataiban 3 percig előkezeltük, utána ugyancsak 3 percig a ható oldatban kínai tussal etettük, majd gyors szárítással keneteket készítettünk. A kenetek *Tetrahymenáiban* levő vacuolumok számát mikroszkópos számlálással határoztuk meg. A vacuolumokat minden kísérlet minden koncentrációja esetében és a kontrollokban is 50—50 egyedben számoltuk meg, majd átlagoltuk és kiszámoltuk a phagocytá indexet, illetve a phagocytá coefficient, amely utóbbi a phagocytá indexnek és a kontrollnak a hányadosa.

Mindhárom anyag leghatásosabb koncentrációiban 3 percig tartott *Tetrahymenákat* fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatnak (9, 16) is alávetettük.

Kísérleti eredmények

Az ismételt kísérletekben teljesen azonos tendenciájú eredményeket kaptunk. A histamin 1 M és 10^{-6} M koncentrációi között a phagocytá coefficient csökkent. Legmagasabb értékét 10^{-9} M koncentrációban érte el, de még 10^{-12} M koncentrációban sem szállt le a kontroll értékre.

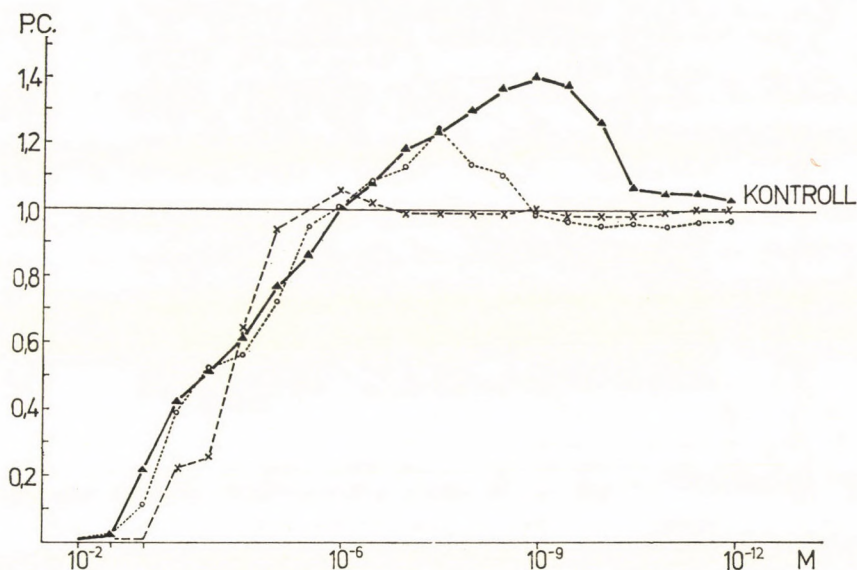
A serotonin phagocytosist növelő hatása 10^{-6} M koncentrációban kezdett mutatkozni és maximális értékét 10^{-7} — 10^{-8} M koncentráció között érte el. 10^{-9} M koncentrációban visszatért a kontroll értékre és végig e körül maradt.

Az indolil-ecetsav kezdetben gátolt, majd 10^{-5} M koncentrációban már megközelítette a kontroll értékét és minimális változásokkal gyakorlatilag végig ezen az értéken maradt (7).

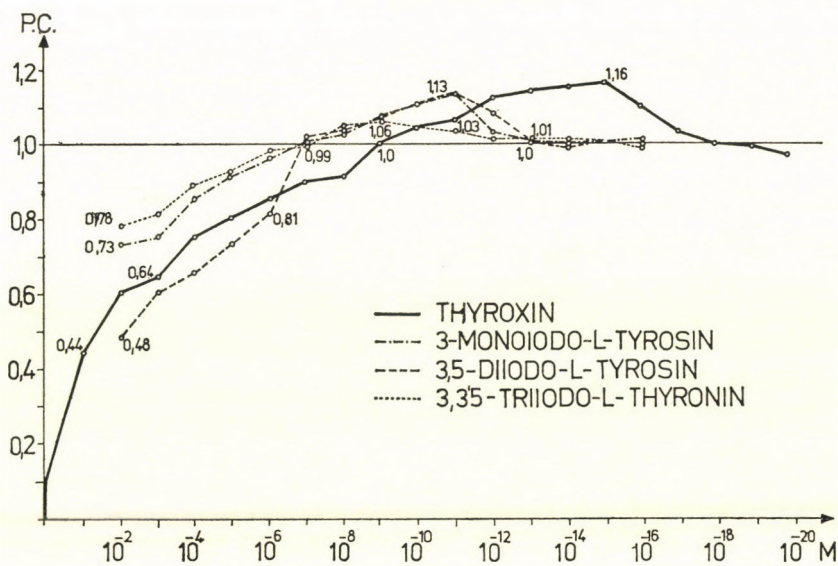
A thyroxin, a monoiod-tirosin, a diiod-tirosin, a triiodthyronin felhasználásával az előzőkhöz hasonló kísérleteket végeztünk. A thyroxin esetében 1 móltól 10^{-20} mólig hígított oldatokban figyeltük a *Tetrahymenák* phagocytosisát, mely lényeges gátlás után 10^{-9} M oldatban elérte a kontroll értéket, majd 10^{-14} móltól 10^{-16} mólig jellegzetes serkentést eredményezett. Ezt követően hirtelen újból a kontrollnak megfelelő értéket kaptunk.

A monoiod-tirosin, a diiod-tirosin, valamint a triiodthyronin hatását 10^{-2} — 10^{-16} mólos hígításokban vizsgáltuk. Elsősorban a monoiod- és a diiod-tirosin bizonyult hatásosnak 10^{-9} — 10^{-10} M oldataiban.

Az adrenalinnek a *Tetrahymena* phagocytosisára kifejtett hatását 10^{-1} – 10^{-20} M oldatokban vizsgáltuk. Itt az erős kezdeti gátlást a kontroll érték gyors megközelítése követte, majd 10^{-5} – 10^{-10} molos oldatokban a



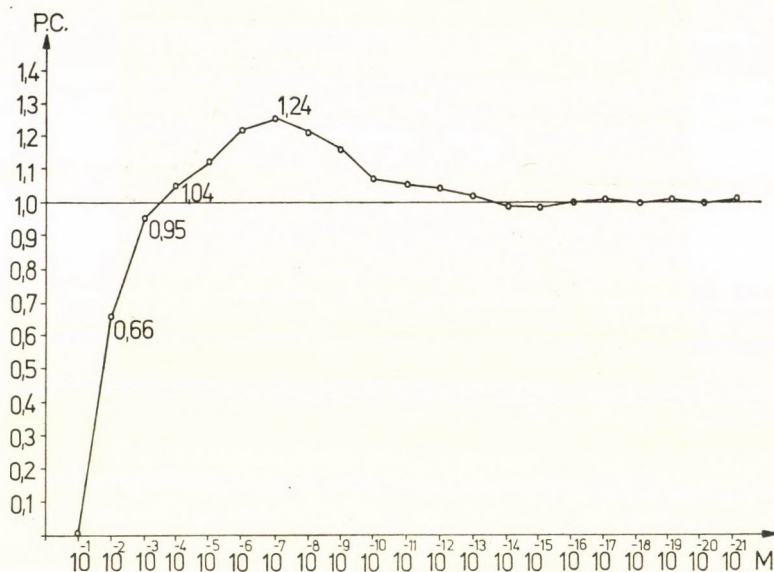
1. ábra. A serotonin, histamin és indolecetsav hatása a *Tetrahymena* phagocytosisára. (Összefüggő vonala a histamin, pontozott vonal a serotonin, szaggatott vonal az indolecetsav görbéje.)



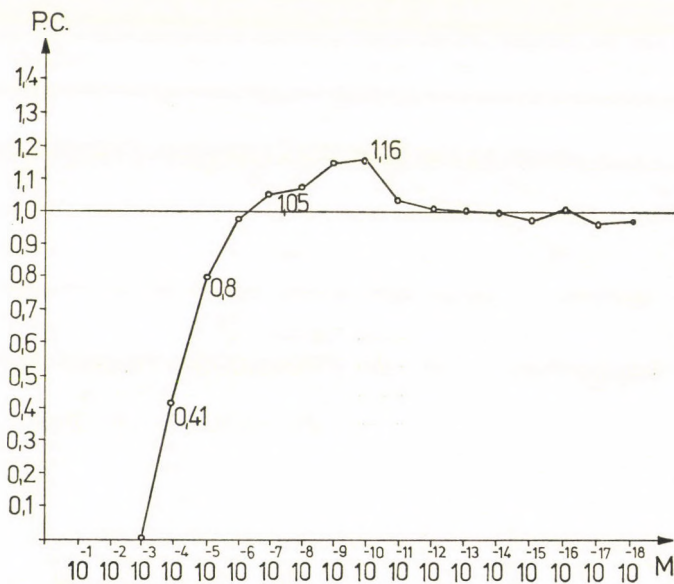
2. ábra. A jódhormonok hatása a *Tetrahymena* phagocytosisára.

kontroll fölé emelkedő értékeket kaptunk, ezután ismét visszatért a kontroll szint.

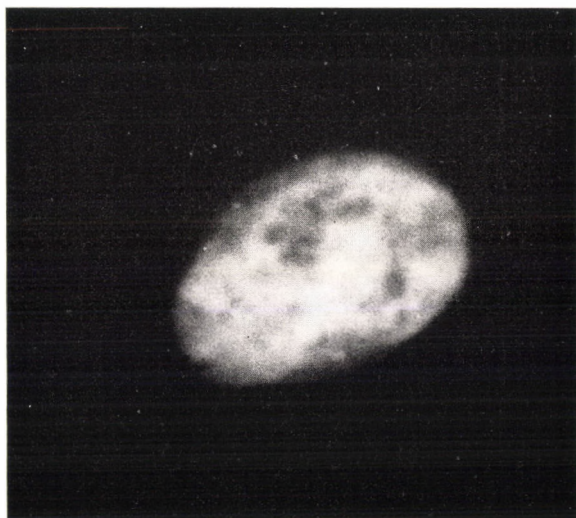
Az insulin hatását 10^{-3} – 10^{-18} M oldataiban vizsgáltuk. Letális hatás után gyorsan emelkedő értékeket kaptunk, amelyek 10^{-6} – 10^{-7} M koncent-



3. ábra. Adrenalin hatása a Tetrahymena phagocytosisára



4. ábra. Insulin hatása a Tetrahymena phagocytosisára



5. ábra. Serotonin a Tetrahymena sejthén

ráció közt érték el a kontroll szintjét, a phagocytosis 15–16%-os serkentését pedig 10^{-9} – 10^{-10} M esetében adták, amely után gyorsan visszatért a gyakorlatilag változatlanul megmaradt a kezeltlen állatokban is kialakuló vacuolomok átlag száma. Fluorescens vizsgálatokkal a histamint a sejtekben kimutatni nem tudtuk, sem a kontroll, sem a kísérleti állatokban. A serotonint a kontrollokban nem, a kezeltékben kimutattuk.

Értékelés

A histamin és serotonin hatására — kezdeti gátlás után, amely a nagyobb koncentráció toxikus hatásaként fogható fel — a *Tetrahymena* phagocytosisa jelentős mértékben nőtt. Ez azt jelenti, hogy az egysejtű a magasabbrendűekben szokványos hormonokra reagált. A histamin a magasabbrendűekben szokványos hormonokra reagált. A histamin a magasabbrendűekben phagocytosist serkentő anyag, a *Tetrahymena* reakciója tehát a histamin hatására adott specifikus válasz volt (15, 19, 21).

A serotoninra adott válasz, bár kisebb mértékben, a histaminéhoz hasonló, ami különösen azért érdekes, mert a két hormon kémiai szerkezete eltérő, de az általuk kiváltott reakció emlősökben is sok tekintetben hasonló, pl. az anaphylaxiás shock esetében (8).

A magasabbrendűek sejtjeinek a histaminra érzékeny specifikus receptorai vannak (2). Bár a *Tetrahymenában* ezek jelenlétét bizonyítani nem tudjuk, annak a feltételezésnek, hogy a *Tetrahymena* receptorai nem specifikusak, ellene szól a serotonin hatásával szemben az indolilecetsavval szembeni areaktivitás, tehát az, hogy minimális molekuláris differenciát is szelektíve érzékel.

Ha a receptort specifikusként fogadjuk el, akkor fel kell tételezni, hogy a sejtek olyan receptorokkal is rendelkezhetnek, amelyekre ható hormonok rendeltetészerűen nincsenek jelen a környezetükben.

Ezen felismerés jelentőségét még nem tudjuk értékelni, bár más vizsgálatok is arra utalnak (4, 5), hogy emlősökben is egyes, a serotonin célsejtjeiként egyébként nem szereplő sejtek speciális körülmények között serotonin érzékeny hormon receptorokkal rendelkezhetnek, míg más sejtek nem.

További kísérletek szükségesek annak kimutatására, hogy a hormonhatás az adenyl-cyclase rendszeren keresztül érvényesül-e? Erről jelenleg annyit állapíthatunk meg, hogy a histamin a sejtekbe nem hatolt be, itt tehát a közvetett mediáció valószínű, a serotonin azonban a sejtekbe bejutott, itt tehát más mechanizmus tételezhető fel.

Utalunk itt arra a kísérleti eredményünkre, hogy histamin fluorescenciát csak a kezelt *Tetrahymena* sejt felszínén tudtunk kimutatni, ugyanakkor a serotonin a sejtek belsejében is látható volt (7, 14).

A jódtartalmú hormonok serkentették a *Tetrahymena* phagocytosisát. Érdekes az, hogy a két phylogenetikailag alacsonyabb rendű jódaminosav komplex erősebben hat, mint a trijodthyronin, ugyanakkor a thyroxinnak, tehát a teljes értékű hormonkomponensnek a hatása, ha nem is erőteljesebb, de szélesebb területen és több nagyságrenddel kisebb koncentrációban is megvan.

Az adrenalin jelen kísérleteinkben alig mutatkozott hatásosnak. Különösen szembeűnő ez, ha az eredményeket összehasonlítjuk a histamin phagocytosist serkentő hatásával.

Az insulin adagolása sajátos módon, szintén növelte a phagocytosist. A serkentő hatás jellegzetes volt.

Jelen kísérleteinkből még nem állapítható meg pontosan, hogy a hatást el nem érő hormonok hatástalanságának oka a receptor hiányában keresendő, vagy abban, hogy a hatások indexe a phagocytosis volt, s erre hatástalanok.

Összefoglalás

Tetrahymena sejt a közegében levő biogén aminokra (histamin, serotonin), illetőleg aminosav típusú hormonokra (thyroxin és mono-, dijódtirosin, trijódtironin, adrenalin), a polipeptid típusú insulinra a phagocytosis mértékének változásával differenciáltan reagál. A biogén aminok között megkülönbözteti az állati szervezetben előfordulóktól a növényi hormont (3-indolilecetsav), mely kísérleteinkben hatástalannak bizonyult.

IRODALOM

1. BERNFELD, P. (1967): Biogenesis of natural compounds. Pergamon Press. Oxford.
2. BLACK, J. W., W. A. M. DUNCAN, C. J. DURANT, C. R. GENELLIN, E. M. PARSONS (1972): Definition and antagonism of histamine H_2 -receptors. *Nature*, **236**, 385—390.
3. BLUM, J. J. (1967): An adrenergic control system in *Tetrahymena*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **58**, 81—88.
4. BOUCEK, R. J., T. R. ALVAREZ (1970): 5-hydroxytryptamine: a cytospecific growth stimulator of cultured fibroblasts. *Science*, **167**, 898—899.
5. BOUCEK, R. J., T. R. ALVAREZ (1961): Increase in survival subcultured fibroblast mediated by serotonin. *Nature New Biol.*, **229**, 61—62.
6. CSABA, G., BIERBAUER, J. (1973): Investigations on the specificity of hormone receptors in Planarians. *Gen. and Comp. Endocrinol.*, közlés alatt.
7. CSABA, G., LANTOS, T. (1973): Effect of hormones Protozoon. Studies on the phagocytotic effect of histamine, 5-hydroxytryptamine and indole acid on *Tetrahymena pyriformis*. *Cytobiologie*, **7**, 361—365.
8. CSABA, B., WENT, M. (1971): Role of histamine, 5-hydroxytryptamine and brodxkinin in the rat anaphylaxis. *Acta phys. Acad. Sci. Hung.*, **39**, 369—374.
9. FALCK, B. (1962): Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method. *Acta physiol. Scand. Suppl.* 197.
10. GARATTINI, S., VALZELLI (1965): Serotonin. Elsevier, Amsterdam.
11. GOODMAN, L., A. GILMAN (1971): The pharmacological basis of therapeutics. Macmillan, London.
12. GUSTAFSON, T., M. TONEBY (1972): On the role of serotonin and acetylcholine in sea urchin morphogenesis. *Exp. Cell. Res.* **62**, 102—117.
13. IVATA, H., K. KARIYA (1973): Adrenergic mechanism in *Tetrahymena* I. Changes in monoamine oxydase activity during growth. *Experientia*, **29**, 265—266.
14. JANAKIEWI, J., J. C. DEVEY, W. KIDDER (1966): The biosynthesis of catecholamines in two genera of Protozoa. *J. Biol. Chem.*, **241**, 2576—2578.
15. JANCsó, N. (1955): Speicherung. Publ. house. Hung. Acad. Sci. Budapest. pp. 346—360.
16. JUHLIN, L., W. B. SHELLEY (1966): Detection of histamine by a new fluorescent phthalaldehyde stain. *J. Histochem. Cytochem.*, **14**, 225—228.
17. KARLSON, P. (1972): Biochemie. Thieme, Stuttgart.
18. KOSTOJANC, H. SZ. (1955): Az összehasonlító élettan alapjai. Akadémiai Kiadó. Budapest.

19. KUSCHINSKY, G., V. HILLE, H. SHIMMASEK (1955): Über Histamine als Mittlersubstanz bei der Wirkung von Adrenachrom als Aktivator von Reticuloendothelzellen. *Arch. exper. Path. med. Pharmacol.*, **266**, 1—6.
20. LANTOS T. (1967): Újabb K-reverziós vizsgálatok és a sejtpérmeabilitás. *Biol. Közl.*, **15**, 102—103.
21. LISON, L., J. SMULDERS (1949): Action de l'histamine sur le système reticulo endothelial chez la grenouille. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 575—577.
22. LOSINA-LOSINSKY, L. K. (1931): Zur Ernährungsphysiologie der Infusorien. Untersuchungen über die Nahrungswahl und Vermehrung bei *Paramecium caudatum*. *Arch. Protistenk.*, **74**, 18—120.
23. SANDERS, M., H. A. NATHAN (1959): Protozoa as Pharmacological Tools: The Antihistamines. *J. Gen. Microbiol.*, **21**, 264—270.

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА ФАГОЦИТОЗ *Tetrahymena pyriformis*

Т. Лантош, Дь. Чаба

Интенсивность фагоцитоза у *Tetrahymena pyriformis* по-разному меняется при введении биогенаминов (гистамина, серотонина), гормонов типа аминокислот (тирохина, моно-, диiodтирозина, триiodтиронина и адреналина) и полипептидов (инсулина) в окружающую её среду. Гормон (3-индолил уксусная кислота) растительного происхождения не имел эффекта в наших опытах. Оказывается, биогенамины животного и растительного (гормон — индолил уксусная кислота) происхождения отличаются по влиянию на фагоцитоз.

HORMONAL EFFECTS ON THE PHAGOCYTOSIS OF *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

T. Lantos and Gy. Csaba

Tetrahymena cells give differentiated responses to the effects of biogen amins (histamine, serotonin), amino acid hormones (mono-, diiodtyrosine, triiodthyronine, adrenaline) and the polypeptid insuline in the medium, which result in changes in the degree of phagocytosis.

Tetrahymenas make differences among the biogen amins namely between those of animal origin and a plant hormone (3-indolil acetic acid). The latter proved to be ineffective in our experiments.

A BÉKA MÁJ PIGMENTSEJT GRANULUMAINAK KATIONCSERÉLŐ TULAJDONSÁGA

FISCHER ERNŐ

Tanárképző Főiskola Állattani Tanszéke, Pécs

Közlésre érkezett: 1973. április 18-án

Bevezetés

A melanin kationcserélő szerepét WHITE (1958) mutatta ki az egér *Harding—Passey*-tumorból és a *Loligo opalescens*ből izolált melanin granulomokon. OBIKA és NEGISHI (1972) lehetségesnek tartja, hogy a *Bufo bufo* melanosomái ioncsere útján kötik meg riboflavin tartalmukat.

Korábbi munkánkban (FISCHER, 1973 b) a *Lumbricidae*ek chloragosomáinak kationcserélő szerepét mutattuk ki izolált chloragosomákon. In vivo kísérletekkel igazoltuk, hogy a chloragosomák kationcserélő tulajdonsága fontos szerepet játszik a befecskendezett trypaflavin megkötésében és toxicitásának csökkentésében. A chloragosomák vegyi összetételük alapján más állatok ismert lipopigmentjeire emlékeztetnek, és a lipofuscinra jellemző festési reakciókat mutatnak (FISCHER, 1972).

Az állatok lipopigmentjei a nagy változatosságuk ellenére is sokban hasonlóak, PEARSE (1960) a ceroid és a lipofuscin, GOLDFISCHER és munkatársai (1966) pedig a lipofuscin és a melanin granulumok közötti kapcsolatról számoltak be. A lipofuscin granulumok és a melanosomák elkülönítési nehézségeit tükrözi az *Amphibia* máj pigmentsejt granulumainak megítélése is. CICHOCKI és ACKERMANN (1967) a *Rana esculenta* máj pigmentsejt granulumait lipofuscinnak határozta meg, VAN WOERT és munkatársai (1965, 1967) az *Amphiuma tridactylum* májában levő pigmentsejteket melanocytáknak nevezik, HACK és HELMY (1964), továbbá HELMY és HACK (1965, 1969) számos kételtű (*Amphiuma*, *Rana*, *Bufo*) májának pigmentsejtjeit a melanin pigmentsejtrendszer részének tekintik. A lipofuscin granulumok a melanosomákhoz hasonlóan jelentős mennyiségű riboflavint tartalmazhatnak (HACK és munkatársai, 1970).

Feltételeztük, hogy a melanosomákon és a chloragosomákon kívül az állatok más lipopigmentjei is rendelkezhetnek kationcserélő tulajdonsággal és ebből adódó fiziológiai funkciókkal. A lipofuscin granulumok kationcserélő tulajdonságának lehetőségére utal, hogy közösleges oldószerekben nem oldódnak és számos savas disszociáló csoportot tartalmaznak (SIEBERT és munkatársai, 1962; BJÖRKERUD, 1964 b), gyakran bazofilek (PEARSE, 1960), vagyis kation jellegű festékekkel festhetők.

Jelen munkánkban a *Rana esculenta* máj pigmentsejt granulumainak kationcserélő szerepét tanulmányoztuk izolált pigment granulumokon, továbbá in vivo körülmények között vizsgáltuk a kationcserélő tulajdonságukon alapuló trypaflavin kötő képességüket.

Anyag és módszer

A *Rana esculenta* máj pigmentsejt granulumainak izolálása.

A májat 10 ml béka-Ringerben homogenizáltuk, G2-es szűrőn nyomással szűrtük, majd 3000 g-vel centrifugáltuk. Az üledéket 6-szor váltakozva 10–10 ml desztillált vízben, illetve 1%-os NaCl oldatban reszuszpendáltuk és centrifugáltuk. Az utolsó centrifugálás után az üledéket egyszer váltott 20 ml 0,1 M pH 8 foszfát pufferban oldott 1%-os tripszin oldatban szuszpendáltuk, és 37 °C-on 1 óráig emésztettük. Centrifugálás után az üledéket kétszer 10–10 ml 1%-os NaCl oldatban, majd háromszor desztillált vízben szuszpendáltuk és centrifugáltuk. Egy béka májából 25–30 mg pigmentet sikerült izolálni.

Az izolált pigment granulumok kationcserélő tulajdonságának vizsgálata.

A pigment granulumok $H^+ - Ca^{++}$ ioncseréje.

25 mg izolált pigment frakciót egyszer váltott 5–5 ml 0,1 N HCl-lel kezeltünk, centrifugálás után 5 ml-enként hozzáadott üvegben bidesztillált vízzel savmentesre mostuk, centrifugáltuk, majd 5 ml-enként 1%-os $CaCl_2$ oldattal mostuk. A mosó oldatok pH-ját Radelkis OP 201/2 típusú pH-mérővel mértük.

A pigment granulumok trypaflavin felvétele és trypaflavin — Ca^{++} ioncseréje.

25 mg izolált pigment frakciót 5 ml 0,001%-os trypaflavin oldatban szuszpendáltunk (Trypaflavin Hoechst AG). Centrifugálás után a pigment granulumok trypaflavin kezelését még kétszer megismételtük. A felülúszók extinkcióját Spektromom 361 típusú spektrofotométerrel mértük 650 nm hullámhosszon. A felülúszó trypaflavin tartalmát a mért extinkció értékből standard görbe alapján állapítottuk meg.

Az első felülúszó trypaflavin tartalma alapján számítottuk ki a megoszlási hányados értékét:

egységnyi súlyú belső oldat trypaflavin tartalma

egységnyi súlyú külső oldat trypaflavin tartalma

A trypaflavinnal kezelt pigment frakciót ezután 5–5 ml desztillált vízzel, majd 5 ml-enként 1%-os $CaCl_2$ oldattal mostuk, a felülúszók extinkcióját mértük.

A pigment granulumok $H^+ -$ trypaflavin ioncseréjének vizsgálata.

A fent említett módon H-formába alakított pigment frakciót háromszor váltott 5–5 ml desztillált vízzel savmentesre mostuk, majd 5 ml-enként 0,001%-os trypaflavin oldatot adtunk hozzá. A felülúszók pH-jának mérésével a H^+ leadást, az extinkció mérésével pedig a trypaflavin felvételt vizsgáltuk.

A máj pigment granulumainak trypaflavin kötő képessége in vivo körülmények között.

A *Rana esculenta* háti nyirokzacskójába 2 naponként összesen 5 alkalommal 1 ml 0,01%-os trypaflavin oldatot fecskendeztünk. Az utolsó befecskendezést követő 1–4. napon az állatok máját feldolgoztuk. A máj 3/4 részéből a pigment granulumokat a korábban leírt módon izoláltuk, az izolált granulumokból a trypaflavint 0,1 N HCl-el extraháltuk. A máj megmaradt 1/4 részének teljes homogenizátumából extraháltuk a trypaflavint hasonló módon. Az extraháló HCl oldatot a pigment frakcióhoz és a teljes májhomogenizátumhoz súlyuk arányában adtuk, majd az extraktumok savmentesítése

után szintén az extrahált anyag súlyának arányában 80%-os alkoholban oldottuk. Az extraktumok trypaflavin tartalmát kromatográfiával különítettük el (FISCHER, 1973 a), mennyiségére a foltméret és a fluoreszcencia intenzitás alapján következtettünk.

Eredmények

A pigment granulomok izolálási eljárását az ozmotikus és proteolitikus roncsolással szembeni ellenállóképesséjükre alapoztuk. Az izolálási eljárások közben az üledék összetételét mikroszkópos vizsgálattal ellenőriztük. A tripszin emésztés előtt a pigment frakciót főleg sejtmagok szennyezték. Tripszin emésztéssel a pigment frakció a szennyező sejtmagoktól megszabadítható, és így a vizsgálataink céljának megfelelő tisztaságú pigment frakciót kaptunk. A lipofuscinnak a proteolitikus enzimekkel szembeni rezisztenciáját (SIEBERT és munkatársai, 1962; BJÖRKERUD, 1964 a) korábban már felhasználták izolálásukra (BRAHN és SCHMIDTMANN, 1920; JAYNE, 1950). Saját izolálási eljárásunk során a proteolitikus emésztési eljárásen kívül ozmotikus roncsolást is alkalmaztunk, amivel szemben a pigment granulomok szintén ellenállók. A kombinált sejtroncsolási eljárások során a sejt struktúrái oldatba mentek, ezért az izolálási eljárás végén végzett egyszerű centrifugálással megfelelő tisztaságú pigment frakciót nyertünk.

A pigment frakció $H^+ - Ca^{++}$ ioncseréje.

A kationcserélőkre jellemző, hogy savas kezelés hatására a kötött kationjaik H^+ ionokkal cserélhetők ki, a kationcserélő H-formába alakítható. A megkötött H^+ ionok azonban más kationokkal a kationcserélőről ismét leszoríthatók. Vizsgálataink során a H-formába alakított pigment frakcióhoz a visszamaradt sav eltávolítása után Ca^{++} ionokat tartalmazó oldatot adtunk, majd centrifugálás után a felülúszó pH csökkenését mértük (1. ábra). A felülúszó pH csökkenése a $H^+ - Ca^{++}$ ioncsere következménye. A pH csökkenés tehát a pigment frakció kationcserélő tulajdonságát igazolja. A $H^+ - Ca^{++}$ ioncsere egy pigment frakción többször ismételhető.

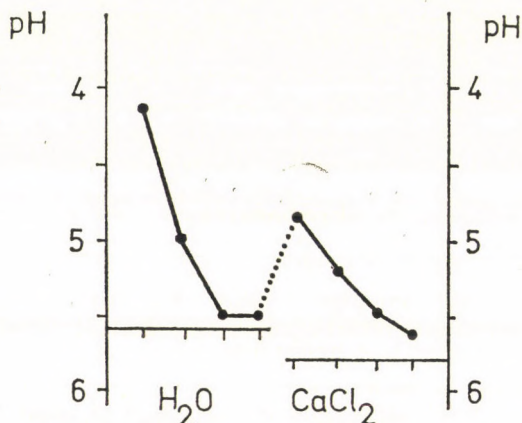
A pigment granulomok trypaflavin felvétele és trypaflavin — Ca^{++} ioncseréje.

A trypaflavin kationként disszociáló acridin származék, amely in vivo és in vitro kísérletekben egyaránt az állati szervezet polianion jellegű vegyületeihez, többek között a nukleinsavakhoz kötődik a legintenzívebben, és ennek következtében toxikus hatású.

Vizsgálataink során a pigment frakció jelentős trypaflavin kötő képességét bizonyítottuk. Kísérleteinkben a kb. 25 mg pigment az egymást követően 5—5 ml oldatban felvitt 50—50 gamma trypaflavinból az első esetben 40, a második oldatból 30, a harmadikból 10 gamma trypaflavint kötött meg. A trypaflavin kötő képesség intenzitását jelzi, hogy a megoszlási hányados értéke $4 - 8 \cdot 10^2$ nagyságrendű, és nagyon jelentős a pigment trypaflavin kötő kapacitása is.

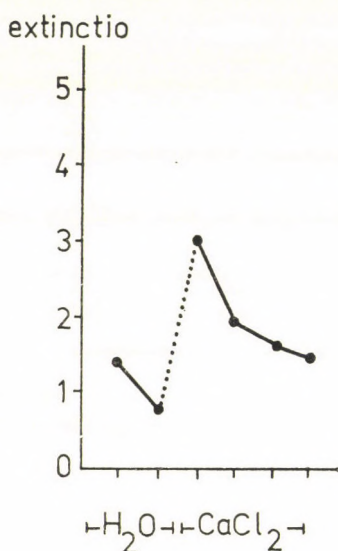
A megkötött trypaflavin túlnyomó része Ca^{++} ionokkal a kötés helyéről leszorítható (2. ábra), amiből a trypaflavin kötés kationcserélő mechanizmusára következtethetünk.

A pigment frakció $H^+ -$ trypaflavin ioncseréje.

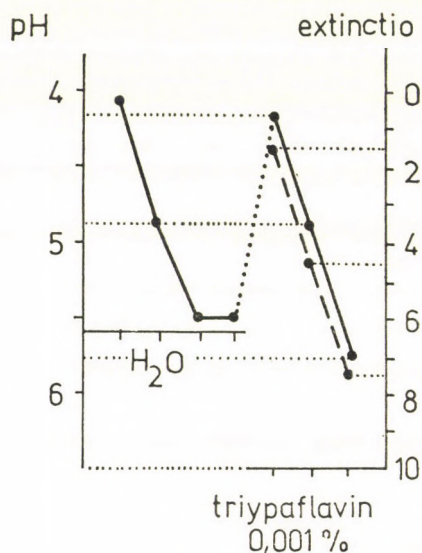


1. ábra. A pigment granulumok $H^+ - C^{++}$ ioncseréje. A H-formába alakított pigment granulumok Ca^{++} ionok hatására H^+ ionokat adnak le, az oldat pH-ja csökken.

Vizsgálataink során abból a megfontolásból indultunk ki, hogy amennyiben a trypaflavin valóban ioncsere útján kötődik a pigment granulumokhoz, akkor a H-formába alakított pigment a trypaflavin felvételével párhuzamosan H^+ ionokat ad le. Ezek alapján a felülúszó (külső oldat) pH-jának és extinkciójának együttes mérésével az ioncsere direkt módon bizonyítható. Eredményeink (3. ábra) a $H^+ -$ trypaflavin ioncserét bizonyítják, a pigment



2. ábra. A pigment granulumok trypaflavin leadása $CaCl_2$ hatására. A trypaflavin-pigment trypaflavin leadását a Ca^{++} ionok fokozzák.



3. ábra. A pigment granulumok $H^+ -$ trypaflavin ioncseréje. A H-pigment H^+ leadását a trypaflavin felvétel fokozza. A H^+ leadása és a trypaflavin felvétele párhuzamosan csökken az egymást követő trypaflavin oldatok hatására.

frakció a trypaflavin felvétellel párhuzamosan H^+ ionokat ad le a külső oldatba, ennek következtében a külső oldat pH-ja csökken.

A máj pigmentsejt granuláinak trypaflavin kötése in vivo körülmények között.

A trypaflavinnal kezelt állatok teljes májhomogenizátum és máj pigment frakció extraktumának összehasonlító kromatográfiás vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a máj pigmentsejt granulái in vivo kísérletekben is jelentős mennyiségű trypaflavint kötnek meg.

Megbeszélés

Az ioncserélők sokoldalú analitikai alkalmazási lehetőségére számos közlemény utal (HELLFERICH, 1962; INCZÉDY, 1962). WHITE (1958) és saját korábbi munkánk (FISCHER, 1973 b), továbbá jelen eredményeink alapján úgy látszik, hogy a kationcserélőknek a fiziológiai folyamatokban hasznosítható tulajdonságait az élő szervezetek is felhasználják életműködéseik során. Különösen jelentős, hogy a kationcserélő tulajdonságot általában olyan pigmenteken sikerült kimutatni, amelyek élettani szerepe napjainkig is vitatott kérdés, és amelyeket sokan ma is funkció nélküli anyagszere végtermékeknek tartanak.

A kationcserélők vízben és közönséges oldószerekben oldhatatlan poliszavak, melyek H^+ ionjai különböző kationokkal cserélhetők ki. A melanin stabil disszociációs gyök gazdagságára COMMONER és munkatársai (1954), majd COPE és munkatársai (1963) is utaltak, WHITE (1958) pedig kationcserélő szerepét is kimutatta. A lipofuscinban BJÖRKERUD (1964 b) többek között foszfatidok, szulfatidok és fehérjék jelenlétét mutatta ki, amely pigment ezek szerint foszforsav, kénsav és karboxil csoportokat tartalmaz. Mindkét pigment típus relatív oldhatatlansága jól ismert. A fentiek alapján a lipofuscin kationcserélő tulajdonsága is elvileg lehetséges.

A bevezetésben már utaltunk arra, hogy az *Amphibiák* májának pigmentsejt granuláit egyesek lipofuscinnak, mások melanosomáknak tekintik. Az *Amphibia* máj pigmentsejtjeinek szerepére vonatkozóan azonban VAN WOERT és munkatársai (1965, 1967), HACK és HELMY (1964), továbbá HELMY és HACK (1965, 1969) különböző kísérleti megközelítéssel egyformán arra a következtetésre jutottak, hogy a pigment mitochondrium funkciókat lát el, oxidációs folyamatokat katalizál.

A kationcserélők változó vegyértékű fém ionok megkötése révén redox katalizátorként is működhetnek (INCZÉDY, 1962), így a máj pigmentnek redox katalizátor jellege kationcserélő tulajdonsága alapján is magyarázható. A máj pigment jelentős Mn^{++} megkötő képességét VAN WOERT és munkatársai (1965, 1967) már kimutatták.

A béka máj acridin származék felvételét korábban in vivo és in vitro vizsgálatok alapján megállapították. HIRT és munkatársai (1939) a trypaflavin, ZEIGER és WIEDE (1954) az acridin orange felhalmozódását vizsgálta. Megállapították, hogy a fenti acridin származékok elsősorban a májsejtek magjainak nukleinsav tartalmához kötődnek. A pigment festékfelhalmozásáról nem tesznek említést.

Saját vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy a máj pigmentgranulái

jelentős kapacitású és nagy megoszlási hányadossal rendelkező kationcserélők. In vitro és in vivo körülmények között egyaránt intenzív tryptaflavin megkötésre képesek, így a szabad tryptaflavin koncentrációjának csökkentése révén védik a nukleinsavakat a tryptaflavin toxikus hatásával szemben. Figyelembe véve, hogy bizonyos koncentráción túl minden kation toxikus lehet a szervezetre, a pigmentek ioncserén alapuló kationkiegyenlítő hatása fontos szerepet játszhat a szervezet kation egyensúlyának fenntartásában, és az egyes kationok toxikus koncentrációjú felhalmozódásának megakadályozásában. Eredményeink és a belőlük levonható következtetések összhangban vannak a melaninnak és a neuro-melaninnak a homeosztázis fenntartásában betöltött szerepére vonatkozó elmélettel (LUKIEWICZ, 1972).

Összefoglalás

A *Rana esculenta* máj pigmentsejtjeinek granuláit a sejtek mechanikai, ozmotikus és proteolitikus roncsolása után centrifugálással izoláltuk. Az izolált pigmentgranulátumok kationkötő és leadó képességét H^+ , Ca^{++} és tryptaflavin ionokkal vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a pigment granulátumok in vitro körülmények között jelentős kapacitású kationcserélőként működnek. Tryptaflavin kötő tulajdonságukat in vivo kísérletekkel is igazoltuk.

IRODALOM

1. BJÖRKERUD, S. (1964a): Studies of lipofuscin granules of human cardiac muscle. I. The isolation of the granules. *Exptl. Mol. Pathol.*, **3**, 369—376.
2. BJÖRKERUD, S. (1964b): Studies of lipofuscin granules of human cardiac muscle. II. Chemical analysis of the isolated granules. *Exptl. Mol. Pathol.*, **3**, 377—389.
3. BRAHN, B., SCHMIDTMANN, M. (1920): Pigmentstudien. Zur Kenntnis des Melanins und des braunen Abnutzungspigment. *Arch. Pathol. Anat. Physiol.*, **227**, 137—145.
4. CICHOCKI, T., ACKERMANN, J. (1967): Histochemical investigation of the pigment in frog livers. *Folia Histochem. et Cytochem.*, **5**, 145—150.
5. COMMONER, B., TOWNSEND, J., PAKE, G. E. (1954): Free radicals in biological materials. *Nature*, **174**, 689—691.
6. COPE, F. W., SEVER, R. J., POLIS, B. D. (1963): Reversible free radical generation in the melanin granules of the eye by visible light. *Arch. Biochem. Biophys.*, **100**, 171—177.
7. FISCHER, E. (1972): Histologiai, histochemiai és histophysiológiai vizsgálatok gyűrűsférgek chloragogen és botryoid szövetén. *Kandidátusi értekezés*, Pécs.
8. FISCHER, E. (1973a): Histochemische Untersuchungen über die metabolische Aktivität der Chloragosomen von *Lumbricus terrestris* L. *Acta histochem.*, **46**, 1—9.
9. FISCHER, E. (1973b): The chloragosomes of earthworms as cation exchangers. In vitro examinations. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, (In press).
10. GOLDFISCHER, S., VILLAVARDE, H., FORSCHIRM, R. (1966): The demonstration of acid hydrolase, thermostable reduced diphosphopyridine nucleotide tetrazolium reductase and peroxidase activities in human lipofuscin pigment granules. *J. Histochem. Cytochem.*, **14**, 641—652.
11. HACK, M. H., COLCOLOUGH, H. L., HELMY, F. M. (1970): Flavin as a component of lipofuscin. *Acta histochem.*, **35**, 357—362.
12. HACK, M. H., HELMY, F. M. (1964): A comparative chemical study of the liver of various vertebrates. *Acta histochem.*, **19**, 316—328.
13. HELLFERICH, F. (1962): Ion exchange. New York, McGraw-Hill.
14. HELMY, F. M., HACK, M. H. (1965): The melanin pigment cell system of frog and toad and of bidder's organ of the toad. *Acta histochem.*, **22**, 324—332.

15. HELMY, F. M., HACK, M. H. (1969): Further observations on the melanin pigment cell system. *Acta histochem.*, **32**, 281—290.
16. HIRT, A., ANSORGE, J., MARKSTAHLER, H. (1939): *Z. Anat.*, **109**, 1. Cit.: ZEIGER, K., WIEDE M. (1954).
17. INCZÉDY J. (1962): Ioncserélők analitikai alkalmazása. Budapest, Műszaki Könyvkiadó.
18. JAYNE, E. P. (1950): Cytochemical studies of age pigments in the human heart. *J. Gerontol.*, **5**, 319—325.
19. LUKIEWICZ, S. (1972): The biological role of melanin. I. New concepts and methodical approaches. *Folia Histochem. et Cytochem.*, **10**, 93—107.
20. OBIKA, M., NEGISHI, S. (1972): Melanosome of toad: A storehouse of riboflavin. *Exptl. Cell. Res.*, **70**, 293—300.
21. PEARSE, A. G. E. (1960): Histochemistry. Theoretical and applied. Churchill, London.
22. SIEBERT, G., DIEZEL, P. B., JAHR, K., KRUG, E., SCHMITT, A., GRÜNBERGER, E., BOTTKE, J. (1962): Isolierung und Eigenschaften von Lipofuscin aus Herzgewebe des Menschen. *Histochemie*, **3**, 17—45.
23. VAN WOERT, M. H., NICHOLSON, A. R., COTZIAS, G. C. (1965): Functional similarities between cytoplasmic organelles of melanocytes and the mitochondria of hepatocytes. *Nature, Lond.*, **208**, 810—811.
24. VANWOERT, M. H., NICHOLSON, A. R., COTZIAS, G. C. (1967): Mitochondrial functions of polymelanosomes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **22**, 477—485.
25. WHITE, L. P. (1958): Melanin: A naturally occurring cation exchange material. *Nature, Lond.*, **182**, 1427—1428.
26. ZEIGER, K., WIEDE, M. (1954): Die Speicherung von Acridinorange in der Froschleber und ihr Einfluss auf das Ausscheidungsvermögen der Leberzelle. *Z. Zellforsch.*, **40**, 401—424.

СВОЙСТВА ОБМЕНА КАТИОНОВ В ГРАНУЛАХ ПИГМЕНТНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ЛЯГУШЕК

Е. Фишер

После разрушения пигментных клеток печени *Rana esculenta* механическим, осмотическим и протеолитическим путем изолировали их гранулы при помощи центрифугирования. Способность гранул связывать и отдавать ионы определяли ионами водорода, кальция и трипафлавина. Выявили, что *in vitro* пигментные гранулы обладают значительной способностью обменивать катионы. Связывание трипафлавина было доказано и в условиях *in vivo*. Обсуждаются возможности физиологических функций, истекающих из свойств обменивать катионы.

CATION EXCHANGING PROPERTY OF GRANULES FROM LIVER PIGMENT CELLS OF FROG

E. Fischer

Granules of *Rana esculenta* liver pigment cells were isolated by centrifuge following osmotic and proteolytic destruction. Cation binding and releasing capability of isolated pigment granules were investigated with H^+ , Ca^{++} and trypaflavin ions.

Significant cation exchanging capacity of pigment granules were observed *in vitro*. Their trypaflavin binding ability was also proved with experiments *in vivo*. Possible physiological functions concluded from the cation binding property were discussed.

AKTINOMICYN-D KEZELÉS HATÁSA A BABLEVÉL PEROXIDÁZ AKTIVITÁSÁRA

DÉZSI LÁSZLÓ

ELTE Biológiai Állomás, Alsógöd

Beérkezett: 1973. július 11-én

A növényi szövetek peroxidáz aktivitása és izoenzim összetétele nagymértékben változik a növények fejlődése, a természetes öregedés NOVACKY és HAMPTON (1968), BUGYILOVA és mtsi. (1971), a fertőzés FARKAS és STAHMANN (1966), LOEBENSTEIN és LINDSEY (1963), LOVREKOVICH és mtsi. (1968), NOVACKY és HAMPTON (1967), RUBIN és ARZICHOWSKAJA (1963), JOHNSON és CUNNINGHAM (1972) és a mechanikailag károsított növényi szövetekben BASTIN (1968), FARKAS és mtsi. (1964), KANAZAWA és mtsi. (1965). A különböző vegyszerek kezelése szintén megváltoztatják a növények peroxidáz aktivitását. A pipékolsav, amely néhány növénytől eltekintve csak a fertőzött, vagy mechanikailag károsított növényekben fordul elő BOZART és DIENER (1963), DIENER (1960, 1963), SELMAN és mtsi. (1961), WELKIE és mtsi. (1967), FAM és PLESKOV (1963), PÁLFI és mtsi. (1966, 1968), YATSU és BOYNTON (1959) szintén befolyásolta a peroxidáz aktivitását, amikor a bab primer leveleit néhány napon keresztül 0,015 M cc-u oldatával kezeltük DÉZSI és mtsi. (1970).

Jelentős mértékben növekedett a bablevél peroxidáz aktivitása, amikor olyan természetes a növényekben előforduló, az anyagszerében nélkülözhetetlen vegyületekkel kezeltük a leveleket, mint a glicin, aszparagin és glutamin. Kisebb mértékben, de szintén növelték a peroxidáz aktivitását más aminosavak is, mint az alanin, aszparaginsav, lizin, metionin, szerin, triptofán, tirozin. Ugyanakkor a levelek protein és klorofill tartalmában lényeges változás nem történt DÉZSI és mtsi. (1970).

Felmerül a kérdés, miért változik a peroxidáz aktivitása a legkülönbözőbb behatásokra, mi a szerepe a megnövekedett aktivitásnak. Erre kielégítő pontos választ adni jelenleg még nem lehet, feltételezéseinkre pedig most nem térünk ki.

Jelenleg azt próbáljuk kideríteni, hogy honnan adódhat a peroxidáz aktivitásának (mennyiségének) növekedése. A növények fertőzések mekhanikai megsértésekor a szövetek károsodnak, ami vagy enzim felszabadulással jár, vagy a károsodott góc indukálja a környező sejteket új enzim-szintézisre. Azonban az említett vegyszerek, aminosavas kezelések nem okoztak a növényi szövetekben károsodást, — amit az is mutatott, hogy a protein és klorofill tartalom nem változott — mégis növekedett a peroxidáz aktivitása. Ugyanakkor növekedett az egyik izoenzim mennyisége, mégpedig az, amelynek felgyarapodását FARKAS és STAHMANN (1966) vírussal fertőzött bablevélben

mutatta ki. Ebből kiindulva nagy a valószínűsége annak, hogy ezekben az esetekben lényegében új enzimszintézis történik, vagy pedig az izoenzimek összetételében történik lényegében változás. Ezen kérdés megközelítése végett végeztük el kísérletünket. Abból a feltevésből indultunk ki, hogyha a különböző vegyszeres kezelések új enzim-szintézist indukálnak, akkor az aktinomicyn-D kezeléssel, esetleg a fény megvonásával ez a hatás meggátolható.

Anyag és módszer

Bab növényeket (*Phaseolus vulgaris* L. Pintos-fajta) üvegházban természetes megvilágítás mellett neveltünk. A kifejtett 20 napos primer levelek egyik felét naponta egy alkalommal 0,02 M glicinnel, 0,02 M aszparaginnal és 0,02 M glutaminnal, illetve ezen vegyületek és 10 µg/ml aktinomicyn-D-t tartalmazó oldatával, valamint 10 µg/ml aktinomicyn-D-vel kezeltük. Vizsgálatot végeztünk 2,4-dinitrofenol 10^{-4} M-os oldatával, továbbá a kezeléseket nemcsak fényen, hanem sötétben tartott növényeken is elvégeztük. Ebben az esetben az üvegházban cserépben felnevelt 20 napos növényeket tettünk termosztátba, sötétbe állandó 22 °C-ra és 1 hétig kezeltük az említett vegyületek oldatával. 7 napi kezelés után a leveleket a növényről levágtuk, először csapvízzel, majd utána desztillált vízzel lemostuk, a középső ér mentén kettévágtuk és a levélfeleket dörzscsészében 0,1 M-os, pH 6,0-os foszfát-pufferben eldörzsöltük. A homogenizátumot 8000 ford/perc 10 percig centrifugáltuk és a felülúszóból quajakollal, mint szubsztráttal meghatároztuk a peroxidáz aktivitását spektrofotométeren 470 µm-nál. A levelek fehérjetartalmát LOWRY és mtsa. (1951) módszerével, a klorofill tartalmat ARNON (1949) szerint határoztuk meg. A nyers kivonat elektroforézisét poliakrilamid gélen végeztük DAVIS (1964) szerint, a gél megfestését FARKAS és STAHMANN (1966) által leírt módon végeztük.

Eredmények és megbeszélésük

Előző kísérletünkben (DÉZSI és mtsi. 1970) megállapítottuk, hogy a peroxidáz aktivitását jelentős mértékben a glicin, aszparagin és a glutamin növelte, ezért jelen vizsgálatunkban csak ezeket a vegyületeket alkalmaztuk külön-külön, valamint az aktinomicyn-D-vel együttesen. Vizsgálatainkat nemcsak a természetes megvilágítási feltételek között végeztük, hanem sötétben tartott növényeknél is annak kiderítése végett, hogy a fénynek van-e valamilyen közvetlen vagy közvetett szerepe a kezelés okozta enzim-aktivitás megváltozásában. Vizsgálataink eredményeit az I. táblázatban közöljük.

A táblázat adataiból látható, hogy a glicin, aszparagin és glutamin az előző vizsgálatunkban közölt eredményekhez hasonlóan (DÉZSI és mtsi. 1970) lényegesen növelték a peroxidáz aktivitását, ugyanakkor a fehérje és klorofill tartalomra csak jelentéktelen hatást gyakoroltak. Az aktinomicyn-D szintén jelentős enzim-aktivitás növekedést eredményezett. A klorofill tartalmat nem befolyásolta, viszont némileg csökkentette a fehérje tartalmat. Amikor a bab leveleket glicin, aszparagin, glutamin és aktinomicyn-D együttes oldatával

I. táblázat

Aminosav, amid és aktinomicyn-D kezelés hatása a bablevél peroxidáz aktivitására, fehérje és klorofill tartalmára

Kezelés	Peroxidáz aktivitás*	Fehérje tartalom*	Klorofill tartalom*
Glicin	+34,2	— 3,4	+0,9
Aszparagin	+37,4	— 5,1	+2,1
Glutamin	+42,3	— 2,8	+1,7
Aktinomicyn-D	+28,0	—12,1	0,0
Aktinomicyn-D + Glicin	+23,0	—10,0	—2,8
Aktinomicyn-D + Aszparagin	+24,2	— 5,6	—3,8
Aktinomicyn-D + Glutamin	+22,4	— 9,4	+4,3
2,4 dinitrofenol	+ 2,1	+ 0,9	—1,5

* Az adatok a nem kezelt kontroll = 100% feletti (+), vagy alatti (—) értékeket mutatják, melyeket 5 vizsgálat átlageredményéből számítottunk ki.

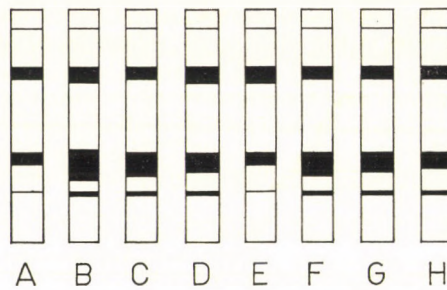
kezeltük még mindig jelentékeny volt a peroxidáz aktivitás növekedése. Azonban már kisebb értékeket kaptunk, mint amikor külön-külön alkalmaztuk azokat. Feltehető, hogy ezen vegyületek közös oldatban valamilyen módon csökkentik egymás hatását. A klorofill tartalomra ez esetben sem gyakoroltak lényeges hatást. A fehérje tartalom csökkenése viszont jóval nagyobb volt, mint a glicin, aszparagin és glutamin külön-külön való alkalmazásánál, azonban a csökkenés mértéke nem érte el azt az értéket, mint az aktinomicyn-D kezelésnél.

A táblázat adataiból azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az aktinomicyn-D-t nem lehet úgy tekinteni, mint egy általános fehérje szintézis gátlót, mivel a bablevél fehérje tartalmát ugyan némileg csökkentette, ugyanakkor viszont növelte egy enzim-fehérje a peroxidáz aktivitását. Feltehető továbbá, hogy az általunk alkalmazott vegyületekkel történő kezelések valamilyen formában vagy az apoenzim-koenzim kapcsolat létrejöttét segíthetik elő, vagy pedig az enzim-fehérjék bizonyos átalakításában működnek közre, ezáltal növelve egyes enzimek így a peroxidáz aktivitását (mennyiségét) más enzim-fehérjék kárára. Úgy véljük hasonló folyamat mehet végbe a növények fertőzések, vagy mechanikai megsértések is.

FARKAS és STAHMANN (1966) vizsgálatából ismert, hogy a vírussal fertőzött bablevélben megnövekedett az egyik gyorsan mozgó peroxidáz izoenzim mennyisége. Az általunk alkalmazott kezelések hasonló változást idéztek elő, melyet az 1. ábrán közlünk.

Az ábrával kapcsolatban megjegyezzük, hogy az egyes kezelések nagyon hasonló változást idéztek elő, ezért a poliakrilamid gélen kapott elektroferrogramoknak csak néhány sematikus ábráját közöljük.

Az 1. ábrán látható, hogy a kezelések a DNP kivételével az egyik peroxidáz izoenzim mennyiségét növelték. Ugyanezen izoenzim növekedett a pipekolsavval kezelt növényekben is (DÉZSI és mtsi. 1970). KAY és mtsi. (1967) szerint az egyes izoenzimek nemcsak elektroforézis tekintetében különböznek egymástól, hanem szubsztrát specifikusságukban, a gátló anyagokkal szemben tanúsított magatartásukban is. Ez utóbbi alapján feltételezhető hogy az általunk megfigyelt izoenzim növekedés valószínűleg kapcsolatban



1. ábra. A peroxidáz izoenzimok poliakrilamid gélen kapott ferrogamjainak sematikus ábrája. Kontroll, nem kezelt (A). Fényen kezelték; glicinnel (B), aktinomicyn-D-vel (C), glicin + aktinomicyn-D-vel (D), 2,4-dinitrofenollal (E). Sötétben kezelték; glicinnel (F), aktinomicyn-D-vel (G) és glicin + aktinomicyn-D-vel (H)

van bizonyos vegyületek nagyobb mértékű, a növényekre káros mennyiségben való felgyarapodásának megakadályozásában, illetve ezen vegyületek elbontásában. Valószínű, hogy a fertőzött növényi szövetekben képződött káros anyagcsere termékek elbontásában ugyanezen izoenzim működik közre.

Amint azt már említettük a különböző kezeléseket nemcsak fényen, hanem sötétben is elvégeztük. Az itt kapott eredmények némileg kisebb értékben, de ugyanazt adták mint a fényen kezelt növények, ezért ezeket az adatokat nem tartjuk lényegesnek közölni. Megállapíthatjuk, hogy kísérletünkben a fény nem befolyásolta a kezelés okozta enzim aktivitás változását. Ezzel szemben BUGYILOVA és mtsi. (1971) arra a megállapításra jutottak, hogy a fénynek pozitív szerepe van a peroxidáz aktivitás növelésében. Vizsgálatukban bab csíranövényeket neveltek természetes és állandó megvilágítási feltételek között. Azt tapasztalták, hogy a természetes megvilágítás mellett nevelt csíranövényekben kisebb volt a peroxidáz aktivitása. Úgy gondoljuk az eltérő eredmény onnan adódhat, hogy vizsgálatunkban nem egyszerűen a fény szerepét tanulmányoztuk, hanem azt néztük, hogy a kezelés okozta enzim-aktivitás változását befolyásolja-e a fény, azaz a megvilágítás. Amint az 1. ábrán látható a gyorsan mozgó izoenzim mennyisége kezelés hatására sötétben ugyanúgy növekedett, mint világosban. Megállapítható tehát, hogy a peroxidáz egyik izoenzimének kialakulásához, gyarapodásához a fény nem szükséges, ennek képzése sötétben is végbemegy.

RUBIN és mtsi. (1970) szerint a peroxidáz részt vesz a fotofoszforilációs folyamatban, az ATP képzésben. Ezért megvizsgáltuk, hogy a 2,4 dinitrofenol, amely gátolja az oxidatív foszforilálást, az ATP képzést, gyakorol-e valamilyen hatást a peroxidáz aktivitására, illetve az izoenzim összetételre. Adataink azt mutatták, hogy a 2,4 dinitrofenollal való kezelés nem okozott változást a bablevél peroxidáz aktivitásában és izoenzim összetételében. Feltehető, hogy ez a reakció csak egyirányú.

Összefoglalás

Az aktinomicyn-D, a glicin, aszparagin, glutamin és a 2,4 dinitrofenol kezelés hatását vizsgáltuk a bab primer leveleinek peroxidáz aktivitására

és izoenzim összetételére. Megállapítottuk, hogy a kezelések a 2,4 dinitrofenol kivételével növelték a peroxidáz aktivitását és az egyik izoenzim mennyiségét. A kezelés okozta enzim-aktivitás növekedése nemcsak fényen, hanem sötétben is végbement. Adatainkból azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az aktinomicyn-D-t nem lehet úgy tekinteni mint egy általános fehérje-szintézis gátlót, mivel kis koncentrációban való alkalmazásakor növelte az egyik enzim-férféje a peroxidáz aktivitását, mennyiségét.

IRODALOM

1. ARNON, D. J. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, **24**, 1—15.
2. BASTIN, H. (1968) Effect of wounding on the synthesis of phenols, phenoloxidase and peroxidase in the tuber tissue of Jerusalem artichoke. *Can. J. Biochem.*, **46**, 1339—1343.
3. BOZARTH, R. F.—DIENER, T. O. (1963) Changes in the concentration of free amino acids and amides induced in tobacco plants by potato virus X and potato virus Y. *Virology*, **21**, 188—193.
4. БУДИЛОВА, Е. В.—РУБИН, Б. А.—ИВАНОВА, М. А.—СЕМЕНОВА, М. А. (1971) Изоферменты пероксидазы в листьях кубышки. *Докл. Акад. наук. СССР*, **800**, 980—982.
5. DAVIS, B. J. (1964) Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *N. Y. Acad. Sci. Ann.*, **121**, 404—427.
6. DÉZSI, L.—PÁLFI, G.—FARKAS, G. L. (1970) A new explanation for the increase in peroxidase activity in diseased and injured plant tissues. *Phytopath. Z.*, **69**, 285—291.
7. DIENER, T. O. (1960) Free amino acids and amides in healthy and virusinfected cherry and peach leaves. *Phytopathology*, **50**, 141—145.
8. DIENER, T. O. (1963) Physiology of virus-infected plants. *Ann. Rev. Phytopath.*, **1**, 197—218.
9. Фам, Ш. К.—Плешков, Б. П. (1963) Влияние уровня питания растений фосфором на содержание свободных аминокислот в листьях и бобах фасоли. *Докл. Моск. с-х. Акад. им. Тимирязева*, **94**, 292—293.
10. FARKAS, G. L.—DÉZSI, L.—HORVÁTH, M.—KISBÁN, K.—UDVARDY, J. (1964) Common pattern of enzymatic changes in detached leaves and tissues attacked by parasites. *Phytopathology*, **49**, 343—354.
11. FARKAS, G. L.—STAHMANN, M. A. (1966) On the nature of changes in peroxidase isoenzymes in bean leaves infected by southern bean mosaic virus. *Phytopathology*, **56**, 669—677.
12. JOHNSON, L. B.—CUNNINGHAM, B. A. (1972) Peroxidase activity in healthy and leaf-rust-infected wheat leaves. *Phytochemistry*, **11**, 547—551.
13. KANAZAWA, Y.—SHICHI, H.—URITANI, I. (1965) Biosynthesis of peroxidase in sliced or black rot infected sweet potato roots. *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 840—847.
14. KAY, E.—SHANNON, L. M.—LEW, J. Y. (1967) Peroxidase isozymes from horseradish roots. *J. Biol. Chem.*, **242**, 2470—2473.
15. LOEBENSTEIN, G.—LINDSEY, N. (1963) Effect of virus infection on peroxidase activity and C_6/C_1 ratios. *Phytopathology*, **53**, 350. (abstr.).
16. LOVREKOVICH, L.—LOVREKOVICH, H.—STAHMANN, M. A. (1968) The importance of peroxidase in the wildfire disease. *Phytopathology*, **58**, 193—198.
17. LOWRY, O. H.—ROSEBROUGH, N. J.—FARR, A. L.—RANDALL, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265—275.
18. NOVACKY, A.—HAMPTON, R. E. (1967) Peroxidase isozymes in tobacco infected with tobacco etch virus. *Phytopathology*, **57**, 463. (abstr.).
19. NOVACKY, A.—HAMPTON, R. E. (1968) Peroxidase isozymes in virus-infected plants. *Phytopathology*, **58**, 301—305.
20. PÁLFI, G.—BARKÓCZI M.—DÉZSI, L. (1966) "Blue test" as an indication of the irregular amino acid-protein metabolism in rice. *Il Riso*, **15**, 285—292.
21. PÁLFI G.—JUHÁSZ J. (1968) A növények aminosav készletének változása vízhiány és sós talaj hatására. *Agrokémia és Talajtan*, **17**, 243—254.
22. RUBIN, B. A.—ARZICHOWSKAJA, E. V. (1963) Biochemistry and physiology of plant immunity. Pergamon Press, New York.
23. Рубин, Б. А.—Воронков, Л. А.—Живопоисцева, И. В. (1970) Некоторые особенности

- каталитических свойств пероксидазы хлоропластов. Докл. Акад. наук. СССР. Серия Биология, 190, 1483—1485.
24. SELMAN, I. W.—BRIERLEY, M. R.—PEGG, G. F.—HILL, T. A. (1961) Changes in the free amino acids and amides in tomato plants inoculated with tomato spotted wilt virus. *Ann. Appl. Biol.*, 49, 601—615.
 25. WELKIE, G. W.—YANG, S. F.—MILLER, G. W. (1967) Metabolite changes induced by cucumber mosaic virus in resistant and susceptible strains of cowpea. *Phytopathology*, 57, 472—481.
 26. YATSU, L.—BOYNTON, D. (1959) Pípecolic acid in leaves of strawberry plants as influenced by treatments affecting growth. *Science*, 130, 864—865.

ВЛИЯНИЕ АКТИНОМИЦИНА Д НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ФАСОЛИ

Л. Дежи

Растения фасоли (*Phaseolus vulgaris* L. подвид *Pintó*) были выращены в оранжерее. Одну половину взрослых, двадцати дневных первичных листьев обрабатывали ежедневно один раз в течение семь дней одним из перечисленных раствором: 0,02 м глицина, 0,02 м аспарагина, 0,02 м глутамина, или совместно 10 μ г/мл актиномицина Д. Проводили также обработку только актиномицином Д и 10^{-4} м 2,4-динитрофенолом. Опыты были проведены на растениях, выращенных при естественном освещении и в темноте. Изучали активность и состав изоферментов пероксидазы, содержание белков и хлорофилла. Обработка, за исключением 2,4-динитрофенола, увеличивала активность пероксидазы и количество одного изофермента при обоих условиях выращивания. Сделали вывод что актиномицин Д не является общим средством, блокирующим синтез белка, так как при малой концентрации он увеличивает количество одного изофермента (т. е. его белка) и активность пероксидазы.

EFFECT OF ACTINOMYCINE-D ON PEROXYDASE ACTIVITY OF BEAN LEAF

L. Dézsi

Bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. Pinto-variety) were grown under glass in plots. The one half of each developed 20 days old primer leaf were treated once a day with 0.02 M glycine, 0.02 M asparagine, and 0.02 M glutamine separately as well as with 10 μ g/ml actinomycine-D and 10^{-4} M 2.4 dinitrophenol solution.

Treatments were carried out on plants kept in daylight or darkness, respectively. After 7 days long treatment the peroxydase activity of treated and control leaf-halves, the peroxydase isoenzyme composition, the protein and chlorophyl content were determined.

It was found that the treatments, except that of the 2.4 dinitrophenol, increased the peroxydase activity and the quantity of one of the isoenzymes.

A FOTOSZINTETIKUS SZÉNCIKLUS ENZIMEINEK VIZSGÁLATA ZÖLDÜLŐ KUKORICA LEVELEKBEN

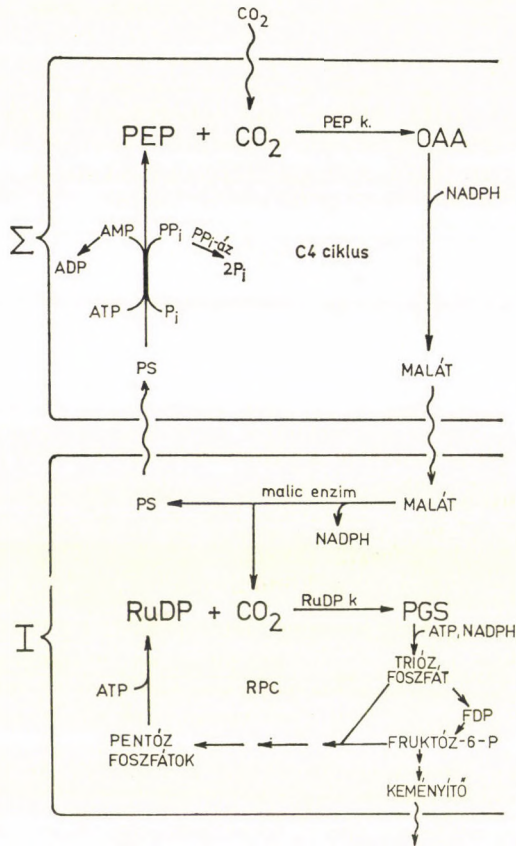
H. NAGY ANNA és SZÉKELY SÁNDOR
ELTE Származás- és Örökléstani Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1973. november 5-én

A sötétben nevelt csíranövények leveleiben a megvilágítás hatására jellegzetes változások zajlanak le a proplasztizok struktúrájában, nukleinsav és protein metabolizmusában, valamint a citoplazma és plasztisz enzimek aktivitásában. A CO_2 fixációs kapacitás fény hatására bekövetkező változását fotoszintetizáló baktériumokban, algákban és magasabbrendű növényekben tanulmányozva megállapítottuk, hogy a ribulózidifoszfát karboxiláz enzim aktivitása és a fotoszintetikus kapacitás szoros kapcsolatban van (Chen és mti 1967). Az alacsony CO_2 kompenzációs pontú, C_4 dikarbonsav ciklussal működő növényekben a foszfoenolpiroszőlősav karboxiláz enzimnek elsőrendű szerepe van a CO_2 fixációban (Hatch és mti 1969). A C_4 dikarbonsav és a C_3 (Calvin) ciklus parallel működése azok enzimeinek eltérő lokalizációja formájában realizálódik (Slack és mti 1969). Az alapfolyamatok vázlatát az 1. ábrán szemléltetjük. A C_4 típusú növényekben a mezofill és hüvelyparenchyma plasztiszok eltérő szerkezete és enzimekapacitása a Calvin típusú növényektől eltérő regulációs viszonyokra enged következtetni. Korábbi vizsgálatainkból kiderült, hogy a kukorica csíranövényekben a CO_2 fixációban szereplő mindkét enzim aktivitása függ a megvilágítás intenzitásától (Nagy és mti 1973), azaz mindkét ciklus a fény reguláló hatása alatt áll. Másrészt a fényérzékeny mutánsok az eltérő pigmentösszetétel és plasztisz szerkezet mellett a fotoszintetikus karboxilázok aktivitásában is határozott különbségeket mutatnak. Jelen munka célkitűzése volt, hogy információt nyerjünk a fény enzim aktivitást szabályozó hatására vonatkozóan a levelek zöldülése során, a kétféle szövettípusban.

Anyag és módszer

A kísérletekhez Zea mays (L.) normális és két recesszív, letális, karotinoid mutáns törzsének csíranövényeit használtuk (Faludi-Dániel és mti 1967). A mutánsok a heterozigóták beltenyésztésével tarthatók fenn. A csíráztatást termosztátban, 25 ± 2 C°-on, vizes papírvattán, sötétben végeztük, majd az egyes mintákat 3, 6, 12, 24, ill. 48 óráig 25 lux intenzitással megvilágítottuk. A megvilágítás kezdeti időpontját úgy állapítottuk meg, hogy a csíranövények a feldolgozáskor pontosan 7 naposak legyenek. A levéllemezekből vett ismert



1. ábra. A C_4 dikarbonsav ciklussal működő növények fotoszintetikus CO_2 megkötésének vázlatos útja

súlyú mintákat 2–3 mm széles és 5 mm hosszú darabokra vágva, MSE késes homogenizálóban 2 percig 10 000 rpm fordulatszámmal pufferolt közegben homogenizáltuk. (A puffer 100 ml-ében 4 mmól Tris, 1 mmól MgCl_2 , 0,02 mmól EDTA^1 , 0,05 mmól aszkorbinsav és 0,05 mmól ditiotreitolt tartalmazott, a pH 7,8 volt.) A homogenátumot $30\ \mu$ pórusátmérőjű nylon szűrőn szűrtük. A szűrlet tartalmazta a mezofill sejtek kivonatát. A szűrési maradékot mosott tengeri homok jelenlétében, porcelán mozsárban a pufferrel eldörzsöltük és ismét szűrtük. Ez a szűrlet a hüvelyparenchyma sejtek kivonatát tartalmazta. Mindkét extraktumot 105 000 g-vel lecentrifugáltuk Janetzky VAC 60 típusú preparatív ultracentrifugán. A teljes műveletet $0 + 5\ ^\circ\text{C}$ -on végeztük. A centrifugálás után kapott felülúszó a levelek oldható fehérjét tartalmazta.

A ribulózdifoszfát karboxiláz és foszfoenolpiroszólósav karboxiláz aktivitást Björkman és Gauhl (1969) módszerével, a $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ inkorporáció alapján határoztuk meg. A szerves kötésbe épült ^{14}C mennyiségét folyadékszcintillációs módszerrel határoztuk meg (Bush és Hansen 1965).

A NADP² specifikus „malic” enzim aktivitását Ochoa (1955) módszerével spektrofotometriásan határoztuk meg az egyes mintákból.

A kísérleteket 3—3 parallelben és 3—4 ismétlésben végeztük. A kapott adatokat egyváltozós lineáris és nemlineáris regressziós analízisnek vetettük alá. A számításokat ODR 1013 típusú számítógépen végeztük. 13 görbétípust illesztettünk egy-egy adatsorhoz, közülük azokat tüntetjük fel, melyek a mért értékekhez legnagyobb valószínűséggel illeszkednek.

Kísérleti eredmények

A normális levelekben a 48 órás megvilágítás során képződő ribulóz-difoszfát karboxiláz aktivitás közel egyenlő arányban oszlik meg a mezofill és hüvelyparenchyma sejtek között (2a ábra). Összességében tekintve, mintegy kétszeresére emelkedik az enzimkapacitás az etiolált levelekéhez képest. A sötétben nevelt ζ -karotinos levelek ribulóz-difoszfát karboxiláz aktivitása a normáliséhoz hasonló (2b ábra) azonban a megvilágítás nem okoz számottevő változást ebben az aktivitás szintben.

A likopinos mutáns mezofill és hüvelyparenchyma szövetében egyaránt alacsony enzimaktivitást mértünk (2c ábra). A 48 órás megvilágítás a hüvelyparenchyma sejtek ribulóz-difoszfát karboxiláz kapacitását kissé növelte.

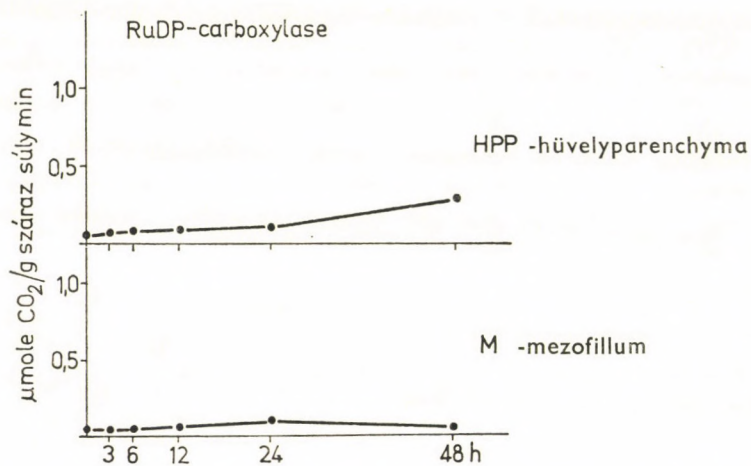
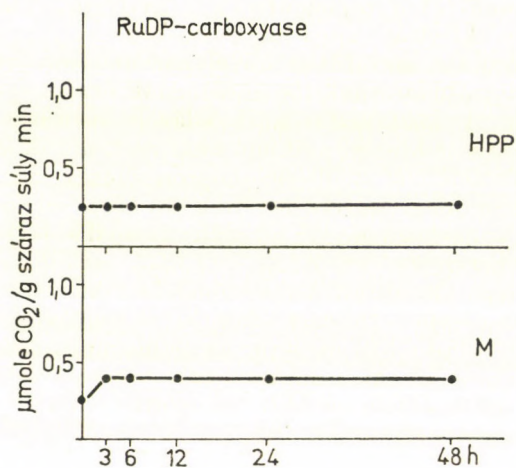
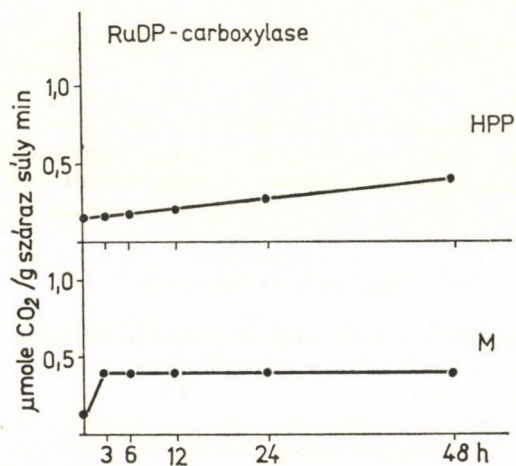
A C₄ dikarbonsav ciklussal működő növények másik kulcsenzime a fotoszintetikus CO₂ fixációban a foszfoenolpiroszőlősav karboxiláz, melynek aktivitásváltozását a megvilágítás során a 3. ábra szemlélteti normális és mutáns levelekre vonatkozóan. Az etiolált normális levelekben a mezofill sejtekben mintegy kétszeres aktivitásszintet határoztunk meg a hüvelyparenchymához viszonyítva (3a ábra). A megvilágítás a hüvelyparenchyma sejtekben csökkenő tendenciájú változást okoz az enzimaktivitásban. Mind a ζ -karotinos (3b ábra), mind a likopinos (3c ábra) mutáns leveleiben a foszfoenolpiroszőlősav karboxiláznak a normálisét többszörösen felülmúló aktivitását mértük. A megvilágítás ebben az aktivitásszintben nem okozott számottevő változást 48 óra alatt sem.

A két ciklus közötti kapcsolatot biztosító NADP specifikus malic enzim aktivitása az etiolált normális levelekben hasonló a mezofill és hüvelyparenchyma sejtekben (4a ábra). A megvilágítás hatására a hüvelyparenchymában nagyobb mértékű növekedést tapasztaltunk, mint a mezofill sejtekben. A ζ -karotinos csíranövény leveleiben már a kiindulási, etiolált levelekben mért malic enzim kapacitás is lényegesen felülmúlja a normálisét (4b ábra). A fény fokozza mindkét szövettípusban az enzimaktivitást. A likopinos levelekben (4c ábra) a normálishoz hasonló aktivitás szintet mértünk, a fény serkentő hatása azonban csak a hüvelyparenchymában figyelhető meg.

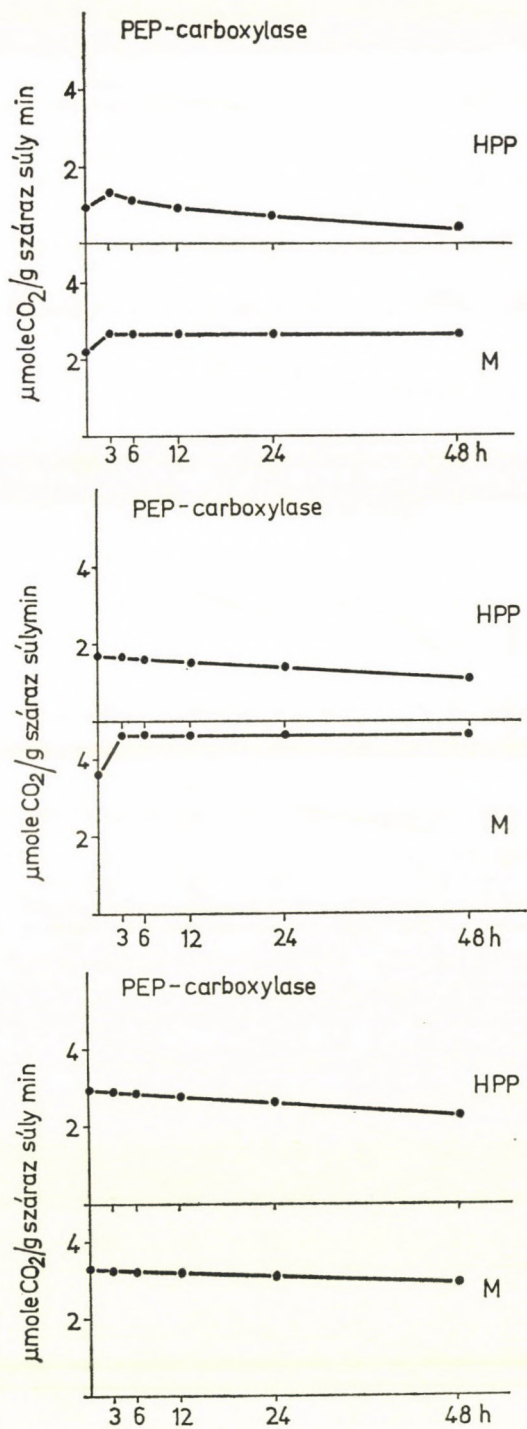
Az eredmények megvitatása

A kísérleti eredmények áttekintése alapján megállapítható, hogy a kétféle szövettípusban, a mezofill és hüvelyparenchyma szövetben az enzimaktivitás szintek már sötétben is eltérők. A kétféle etioplaszt funkcionális

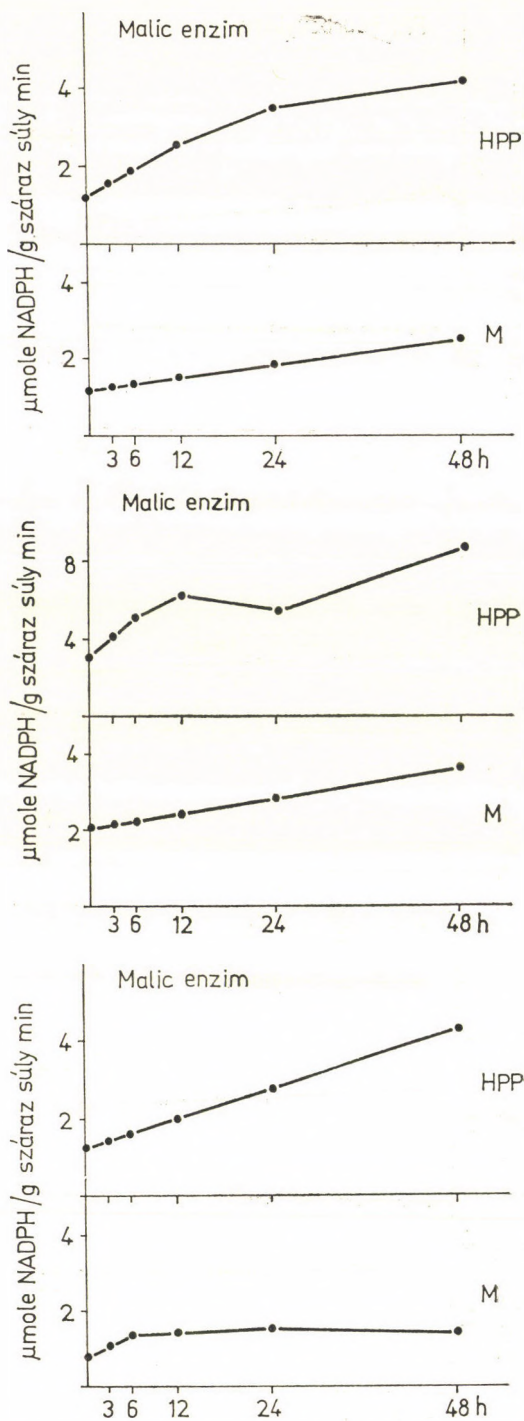
1. etilén-diamin-tetraacetát.
2. nikotin-adenin-dinukleotid foszfát.



2. ábra. A ribulózdifoszfat karboxiláz aktivitásának változása az etiolált levelek megvilágítása során. (a = normális; b = ζ-karotinos; c = likopinos)



3. ábra. A foszfoenolpiroszölősav karboxiláz aktivitásának változása az etiolált levelek megvilágítása során. (a = normális; b = ζ -karotinos; c = likopinos)



4. ábra. A NADP specifikus malic enzim aktivitásának változása az etiolált levelek megvilágítása során. (a = normális; b = ζ-karotinos; c = lipinos)

különbözősége mellett, mint az korábbi vizsgálataink során kiderült, morfológiailag is elkülöníthető (Nagy és mti 1972). Az etiolált levelek enzimregulációjának önállóságát bizonyítja a mutánsok normálistól eltérő foszfoenolpiroszőlősav karboxiláz és malic enzim kapacitása is. A fény a vizsgált enzimek közül a ribulózdifoszfát karboxiláz és a malic enzim kapacitást érintette elsősorban a normális levelekben. Ez arra utal, hogy a fény szabályozó hatása a két ciklus, a C_4 dikarbonsav ciklus és a Calvin ciklus funkcionális kapcsolatának kialakulásában hat. Ezen alacsony megvilágítási intenzitáson a ribulózdifoszfát karboxiláz aktivitása a limitáló tényező, amely a fotoszintetikus CO_2 megkötés mértékét meghatározza. Ezt alátámasztják a mutánsokkal végzett kísérleteink, melyek szerint a normálisét lényegesen meghaladó foszfoenolpiroszőlősav karboxiláz és malic enzim aktivitás alacsony ribulózdifoszfát karboxiláz aktivitás mellett in vivo kihasználatlan (Nagy és mti 1971). Másrészt a két ciklus paralel működése csak az enzimek megfelelő megoszlása mellett, a kétféle szövettípus között képzelhető el. Így a mutánsok hüvelyparenchyma sejtjeiben mért magas foszfoenolpiroszőlősav aktivitás a közös szubsztrát (CO_2) miatt a ribulózdifoszfát karboxiláz kompetitív gátlását is eredményezheti.

Összefoglalás

A fotoszintetikus CO_2 megkötésben szereplő két ciklus kulcsenzimeinek aktivitását tanulmányoztuk zöldülő kukorica levelekben. Megállapítottuk, hogy a mezofill és hüvelyparenchyma szövetekben, az etiolált és megvilágított normális levelekben az enzimkapacitások eltérőek. A fényhatás elsősorban a ribulózdifoszfát karboxiláz és a malic enzim aktivitás növelésében számottevő. A kloroplaszt mutánsokban mind a sötétben nevelt, mind a megvilágított levelek enzimaktivitás szintjei a normálisétól jelentősen eltértek.

IRODALOM

1. BJÖRKMAN, O., GAUHL, E. (1969: Carboxydismutase activity in plants with and without β -carboxylation of photosynthesis. *Planta* (Berl.), **88**, 197—203.
2. BUSH, E. T., HAUSEN, D. L. (1965): Improvement of liquid scintillation counting efficiencies by optimization of scintillator composition. Relative efficiencies for three new fluors. In: Radioisotope Sample Measurement Techniques in Medicine and Biology. Proc. Symp. Vienna pp. 395—408. Int. At. Energy Agency, Vienna.
3. CHEN, S., MCMAHON, D., BOGORAD, L. (1967): Early effects of illumination on the activity of some photosynthetic enzymes. *Plant Physiol.*, **42**, 1—5.
4. FALUDI-DÁNIEL, Á., LÁNG, F., NAGY, Á., FALUDI, B. (1967): The inheritance of carotenoid types in maize. *Acta Agron. Acad. Sci. Hung.*, **16**, 1—6.
5. HATCH, M. D., SLACK, C. R., BULL, T. A. (1969): Light induced changes in the content of some enzymes of the C_4 -dicarboxylic acid pathway of photosynthesis and its effect on other characteristics of photosynthesis. *Phytochem.*, **8**, 697—707.
6. NAGY, H. A., GYURJÁN, I., SZÉKELY, S., DOMAN, N. G. (1973): Activities of enzymes related to photosynthesis and $^{14}CO_2$ fixation products in normal and carotenoid mutant maize leaves. *Photosynthetica*, **7**, 87—92.
7. NAGY, H. A., PACSÉRY, M., FALUDI-DÁNIEL, Á. (1971): Activity and compartmentation of photosynthetic carboxylases in normal and chloroplast-mutant maize leaves. *Physiol. Plant.*, **24**, 301—305.

8. H. NAGY, A., RAKOVÁN, J. N., ROMÁN, M., DOMAN, N. G. (1972): Plastid development and capacity of carboxylating enzymes in normal and mutant maize leaves under different illumination intensity. *Ann. Univ. Sci. Bp.*, **14**, 59—71.
9. ОСНОА, S. (1955): Malic enzyme. In: *Methods in Enzymology* (eds. Colowick, S. P., Kaplan, N. O.) **1**, 739—753. Acad. Press, New York.
10. SLACK, C. R., HATCH, M. D., GOODCHILD, D. J. (1969): Distribution of enzymes in mesophyll and parenchymasheath chloroplasts of maize leaves in relation to the C_4 -dicarboxylic acid pathway of photosynthesis. *Biochem. J.*, **114**, 489—498.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ ЦИКЛЕ УГЛЕРОДА В ЗЕЛЕНЕЮЩИХ ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ

А. Х. Надь, Ш. Секель

В процессе C_4 -дикарбонового цикла проростков кукурузы изучалось активность важнейших энзимов фиксации CO_2 (Р—1,5-дифосфаткарбоксилазы, ФЕП-карбоксилазы, малик энзима) в зависимости от времени освещения. Установлено, что активность энзимов локализованных в мезофилльных и обкладочных клетках, в процессе освещения заметно изменяется. Как этиолированных, так и в освещённых нормальных листьях (за 3—48 часов) молярная активность ФЕП-карбоксилазы, выше чем таковая Р—1,5-дифосфаткарбоксилазы.

Отмечая нормальные отклонения как в процессах тканевой дифференциации, так и в световой регуляции активности энзимов каротиноиддефициентных мутантов (ликопиновый и ζ -каротиноидный мутант).

THE ACTIVITY OF THE ENZYMES OF THE PHOTOSYNTHETIC CARBON CYCLE IN GREENING MAIZE LEAVES

A. H. Nagy, S. Székely

The authors measured the activity of ribulose diphosphate carboxylase and phosphopyruvate carboxylase as well as of NADP specific malic enzyme in normal and mutant maize leaves following continuous illumination for various time. They found that phosphopyruvate carboxylase showed a considerably higher activity than ribulose diphosphate carboxylase. Both in the etiolated and in the illuminated leaves they could measure different levels of activity in the mesophyll and bundle-sheath cells. Tissue differentiation and light regulation in the mutants, as well as the enzyme level measured in the etiolated leaves equally different from those observed in the normal plants.

CHROMOSOMA ABERRATIO ÉS ONTOGENESIS*

NAGY MÁRIA

Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest

Átdolgozott alakban beérkezett 1973. április 10-én

Az ontogenesis magában foglalja az egy- és többsejtű állatok, illetve növények szerkezeti és működési fejlődését megtermékenyítésüktől halálukig, — differenciálódásukat és öregedésüket is. Ez a folyamat a zygota sejtmagjában kódolt program szerint következik be, a környezet által megengedett módon. Egységes folyamatról lévén szó, feltehető, hogy benne más-más időben, tehát pl. az embryonális fejlődés és az öregedés során hasonló jelenségek játszódhatnak le.

A differenciálódás alapvető kérdése az, hogy az embrionális fejlődés során mikor és milyen mechanizmussal történik a zygota sejtmagjában levő egységes genetikai információ „beszűkülése”, ugyanakkor a keletkező szövetekben egymástól eltérő speciális képességek nyerése? A „mikor” kérdésére azok a kísérletek adnak választ, ahol meg nem termékenyített petesejtek sejtmagjait különböző differenciáltsági fokú sejtmagokkal cserélik ki. FISCHBERG és munkatársai (8) szerint a kételtű blastula sejtmagjai még egyenértékűek, de a gastruláé már nem.

Az I. táblázaton — a teljesség igénye nélkül — feltüntettük a genetikai információ „beszűkülésének”, vagy megváltozásának azokat a lehetséges variációit, amelyek talán a „milyen” kérdésre adhatnak választ. Ahogy az közismert, az állati sejtek differenciálódásuk foka szerint nagyon eltérnek egymástól. [II. táblázat BUCHER (5) nyomán módosítva.] Fiziológias körülmények között csak azokban a sejtekben jöhet létre chromosoma alak, illetve számváltozás, amelyek csak mérsékelten differenciáltak és megtartották mitózis készségüket.

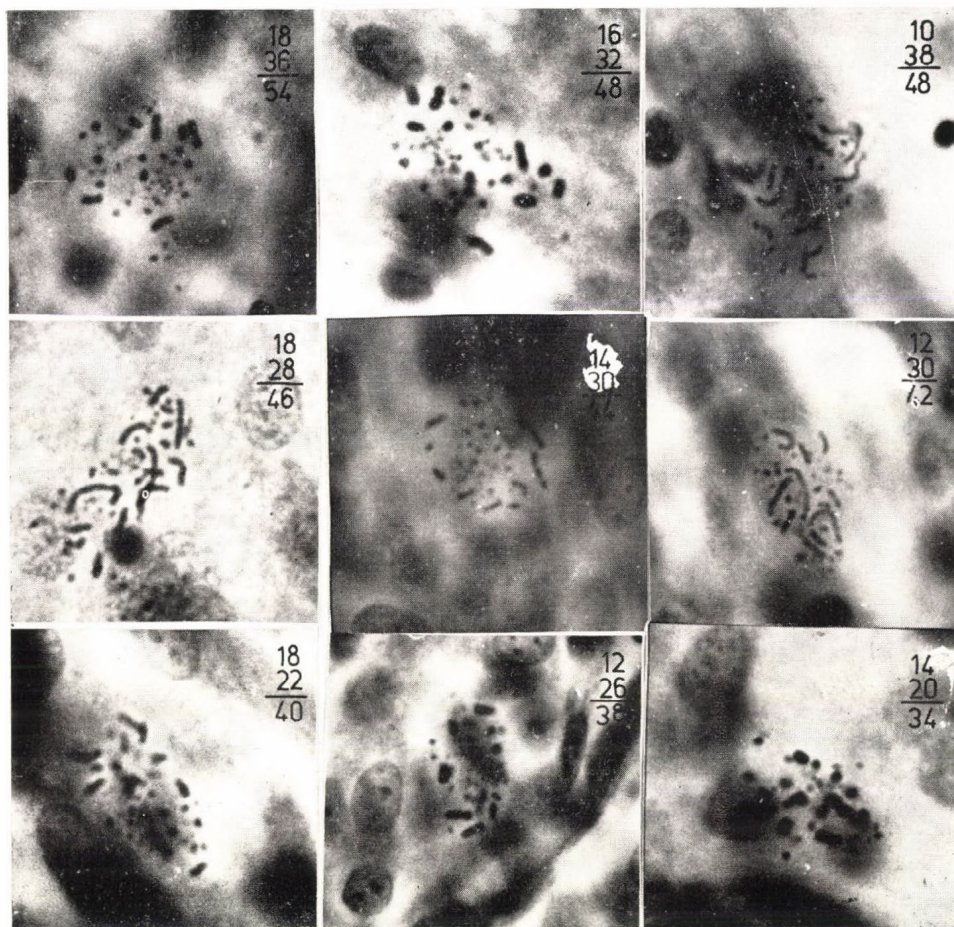
Továbbiakban figyelemmel kísérjük azokat az endogen eredetű chromosoma alak- és számváltozásokat, amelyek az ontogenesis korai, illetve késői szakaszában fiziológiai körülmények között lépnek fel, irreverzibilisek és a differenciálódáson át végső soron e sejtek halálát eredményezik. (I. táblázaton vastag vonallal keretezett terület.)

Arról, hogy a *Parascaris equorum*-ban az embrionális fejlődés alatt chromosoma részek vesznek el, először a múlt században BOVERI (4) számolt be. Századunkban Planáriákban MELANDER (12) figyelt meg hasonlót. Somaticus sejtekben differenciálódás során egész chromosomák elvesztéséről, *Cecidomydaek*-

* A X. Biológiai Vándorgyűlésen 1972 augusztusban „Mutatio és ontogenesis” címmel elhangzott előadás nyomán.

1. táblázat
A genetikai informatio beszűkülése vagy megváltozása

Oka		Reversibilitása	Módja	Következménye			Előfordulása
exogen	endogen			közvetlen	közvetett	végső	
	endogen	reversibilis	1. génrepressio 2. chromosoma-heteropycnosis	m RNS, ill. polypeptidképzés hiánya	differentialodás →	sejthalál	megtermékenyüléstől ↓ halálig
exogen	endogen	lehet reversibilis	pontmutatio				
exogen	endogen	irreversibilis	1. chromosoma alakváltozás 2. chromosoma számváltozás	m RNS, ill. polypeptidképzés hiánya vagy megváltozása			



1. ábra. Napos csirke tollpulpájából készült cytogenetikai preparatum részlete, találomra kiválasztott sejtekkel. A képek felső sarkában (a felső soron; a macro-, a középsőn; a micro-, az alsó soron az összes) megszámlálható chromosomaszám látható.

2. táblázat

A különböző sejtek differenciálódási foka és információvesztésének mértéke közötti kapcsolat
 Bucher nyomán

Differenciálódás foka	Információvesztés mértéke	Mitosiskészség	Például
Mérsékelt	Kisfokú	Megtartott	Embryonalis sejt, csontvelősejt, bőr- és bélhám, stb.
Nagyfokú	Közepes	Csak regeneratio- ban	Máj, vese
Rendkívüli	Nagyfokú	Elveszett	Ideg, izom
Túlzott	Teljes	Elveszett	Vörös vértest
Téves			Tumor

ben GEYER-DUSZYNSKA (9), BANTOCK (1), Chironomidaekben DU-BOIS (3) számolt be. Kétéltűekben a metamorfózis után, ha nem is túl gyakran, de találtak „abnormis” chromosoma complementeket FISCHBERG és munkatársai (8). 1971-ben MILLER és munkatársai (13) írtak arról, hogy 16–18 órás csirkeembriók sejtjeinek 11%-ában fordult elő „abnormis” karyotypus. Még teljesen ép emberi magzatok karyotypusa is rendelkezhet „abnormitás”-sal ahogy erről SZEMERE és munkatársainak (15) dolgozata tanúskodik.

Az öregedés során is figyeltek meg hasonlókat.* SZILÁRD Leo (16) szerint: A somaticus sejtek chromosomái, az élet során „találatok” következtében sérülnek. Adott időegység alatt a chromosoma sérülések száma állandó. Az öregedéssel egyre inkább csökken a túlélő sejtek és a működő gének száma. Ha ez a szám egy határértéket elér, akkor az már az élettel összeegyeztethetetlen és bekövetkezik a halál. 1962-ben BASERGA (2) kiszámolta, hogy az emberi szervezetet 10^{13} -nál több sejt alkotja, ebből 10^{11} -en megy át mitózison naponta és ezekből 10^6 -ban fordulhat elő mutáció. Az öregedés somaticus mutációs teóriáját több szerző: JACOBS és munkatársai (10), CURTIS (6), CURTIS és munkatársai (7), KERKIS és munkatársai (11) vizsgálata igazolja, akik öregedő, vagy öreg szervezetekből származó sejtekben gyakrabban hypo-, ritkábban hypermodális chromosoma számot és az aneuploidia mellett chromosoma delecíót és egyéb eltérést is megfigyeltek. Ezek szerint tehát, *fiziológiai körülmények között is, különösen az ontogenesis korai és késői szakaszában, endogen okokra visszavezethető módon, mind chromosoma alak- mind számváltozás előfordulnak.* Az, hogy a somaticus sejtek mutációs skálája jóval nagyobb, mint a gamétáké, biztosítja az egyén differenciálódását, valamint halálát, ugyanakkor a faj fennmaradását [CURTIS 1963. (6)].

A megváltozott chromosomájú sejtek sorsa a különböző időben bekövetkező sejthalál. Ahogy a soksejtű szervezetben nem minden létrejött chromosoma alak- és számváltozást kell feltétlenül pathológiás folyamatnak tekintenünk, úgy bizonyos határig a sejtek halálát sem, mert ŠVAJGER (17) pl.: többféle fiziológiai sejthalált: így morfogenetikus, histogenetikus, filogenetikus stb. sejthalált különböztet meg. A sejthalált a fejlődés, a differenciálódás egyik

* Az alább ismertetteken kívül az öregedés során valószínűleg egyéb genetikai folyamatok is szerepet játszanak, ahogy ez a különböző, itt nem említett irodalmi adatokból is kiténik.

alapvető mechanizmusának, a normális élet integráns komponensének tekinti, amelyre a menetrendszerinti előfordulás a jellemző. A fejlődő szervezet olyan nagy tartalékokkal rendelkezik, hogy „elbírja” ennyi sejt halálát, ugyanakkor talán ezen tartalékok felhasználása a genetikailag meghatározott élettartam manifestálódásának egyik eszköze lehet.

A genetikusan programozott sejthalál egyik könnyen vizsgálható példájával találkozhatunk a madarak fejlődő tollpulpájában. HAVASI Andrással és FÁBIÁN Gyulával (14) 40 db naposcsirkén végzett vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a csirkék (*Gallus domesticus*) evező tollainak (remiges) írha eredetű pulpájának élete igen rövid, kb. 10 nap. A kikelés utáni első 3 napon még elég sok mitózis fordul elő, majd ezek száma stagnál, illetve minimumra csökken. Ugyanakkor a tollpulpa eltűnik. Ha ebben az időben készült karyotipusokat vizsgáljuk, akkor közöttük gyakran találhatunk hypomodális chromosoma számú sejtet, ahol főleg az ún. „microchromosomák”, de gyakran a „makrochromosomák” száma sem éri el a fajra jellemző számot (1. ábra). A *Gallus domesticus* chromosoma-száma 78. Ebből 60 db „micro”- és 18 db a „macrochromosomák” száma.

Feltételezhető, hogy az „atípusos” karyotipusú sejtekben a sejtmag vagy nem ad, vagy szokatlan információt ad a saját cytoplazmájának és így lassan incompatibilis lesz vele szemben. A megváltozott sejt cytoplasmája még egy ideig aktuális információ nélkül is, — a cytoplazmában még megmaradt régebbi mRNS segítségével — életét fenntartja. Később az ilyen sejtek a macrophagokkal szemben lesznek incompatibilissé és válnak azok áldozatává.

Összefoglalva: Az ontogenesis korai és késői szakaszában endogen okok miatt fellepő chromosoma alak- és számváltozások, valamint a következményes sejthalál nem pathológiás folyamatnak, hanem a differenciálódás eszközének tekinthetők, ahogy ez a rövid életű tollpulpában is megfigyelhető.

IRODALOM

1. BANTOCK, C. (1961): Chromosome elimination in Cecidomyidae. *Nature*, **190**, 466—467.
2. BASERGA, A. (1962): New ideas on senescence. *Vita hum*, **5**, 1—9.
3. DU-BOIS: cit: MELANDER
4. BOVERI: cit: MELANDER
5. BUCHER, O.: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Med. Verl. Bern. 1970.
6. CURTIS, H. I.: Evidence favoring the somatic mutation theory of aging. 16th annual meeting of the Gerontological Society. Boston. 1963.
7. CURTIS, H. I., LEITH, I., TILLEY, I. (1966): Chromosome aberrations in liver cells of dogs of different ages. *J. Geront.*, **21**, 268—270.
8. FISCHBERG, M., BLACKER, A. W., VEHLINGER, V., REYNAUD, I., DROIN, A., STOCK, I.: Nucleocytoplasmic control of development. In: Genetics today. 1965. Ed.: S. S. Geerts.
9. GEYER-DUSZYNSKA, I. (1959): Experimental research on chromosome elimination in Cecidomyidae. *J. Exp. Zool.*, **141**, 391—448.
10. JACOBS, P. A., BROWN, W. M., DOLL R. (1961): Distribution of chromosome counts in relation to age. *Nature*, **191**, 1178—1180.
11. KERKIS, YU. YA., RADZHABLI, S. I. (1966): Age-dependent changes in karyotype of somatic cells in man. *Citologija*, **8**, 282—285.
12. MELANDER, Y. (1963): Cell differentiation and delayed separation of anaphase chromosomes. *Hereditas*, **49**, 277—284.
13. MILLER, R. C., FECHHEIMER, N. S., JAPP, R. G. (1971): Chromosome abnormalities in 16 to 18 hour chick embryos. *Cytogenetics*, **10**, 121—136.
14. NAGY M., HAVASI A., FÁBIÁN GY.: Még nem publikált adatok.

15. SZEMERE Gy., KISZELY Gy. BARDÓCZY A., SZONTÁGH F. (1966): Megfigyelések emberi embryonális chromosomákon. *Orvosi Hetilap*, **107**, 1345—1350.
16. SZILÁRD, L. (1959): On the nature of the aging process. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **45**, 30—45.
17. SVAJGER, A. (1968): Cell death as a normal biological phenomenon. *Lijecn. Vjesn.*, **90**, 843—856.

ADATOK A KLINEFELTER-SYNDROMA GENETIKAI, IMMUNOLÓGIAI ÉS ULTRASTRUKTURÁLIS KÉPÉHEZ

BUJDOSÓ GYÖRGYI, BALOGH ISTVÁN, OTTÓ SZABOLCS és CSONKA SÁNDOR
SOTE Igazságügyi Orvostani Intézete és a Siófoki Városi Tanács Kórház I. Belgyógyászati
Osztálya

Beérkezett: 1973. december 12-én

Bevezetés

Az utóbbi 10 év során szaporodott a férfi hypogonadizmussal foglalkozó közlemények száma. Funkcionális és morfológiai vizsgálatokkal (ultrastrukturális szinten is) kísérlik meg felkutatni a tünetcsoport kialakulását meghatározó tényezőket. A chromosomális, fehérje-, hormonális és finom szövet-strukturális vizsgálatok eredményei — az esetek gyűjtésével — vezethetnek csak az aetio-pathogenezis tisztázásához.

Anyag és módszer

V. Gy. 18 éves férfinak, az anyjának (V. L.-né) és apjának (V. L.) szájnálkahártyájáról öblítés után kaparékot vettünk. Zsírtalanított tárgylemezen aether-alkohollal fixáltuk. HCl-es hydrolysis után kresilviolett festést alkalmaztunk. Egy csepp ujjbegyből nyert vért zsírtalanított tárgylemezen szélesztettünk, — szobahőn szárítottunk, metanolos fixálás után Giemsa-oldattal festettük. Parker-táptalajhoz (streptomycint + penicillint tartalmazott) kb. 0,5 ml savót mértünk, a chromosomákat 72 órás tenyésztés után leukocytákból nyertük. A mitosis leállítására 6 γ végkoncentrációjú colchicint alkalmaztunk (Nutritional Biochemicals Corporation). A festés 10%-os (Reanal) Giemsa-oldattal történt.

V. Gy. sebészetiileg eltávolított heréjéből vettük a mintákat. A fixálást 3%-os glutaraldehydben (Palade) végeztük, majd az anyagot 1%-os osmiumban utánfixáltuk és aralditba ágyasztuk. Az LKB ultratommal készített ultravékony metszeteket uranilacetáttal és ólomacetáttal kontrasztoltuk, majd JEM 6C, valamint OPTON EM 9 S2 elektronmikroszkópon vizsgáltuk 60 kw gyorsító feszültség mellett.

V. Gy., V. L. és V. L.-né szérumával immunelektroforezist (Scheidegger 1955) és semikvantitativ titrációs immunelektroforezist végeztünk (Jákó és mtsai 1967). A kontrollként elfogadott normál humanszérummal (Biotest) hasonlítottuk össze.*

* A technikai munkáért Seffer Istvánné és Felhővalvy Teréz laboránsoknak mondunk köszönetet.

Eredmények

V. Gy. klinikai vizsgálata alkalmával Klinefelter-syndromát észleltünk (I. táblázat) cartilaginaer exostosisokkal.

1. kép: a nőies csípők mellett megfigyelhetjük a kp. fokú gynecomastiát. A 2., 3., 4. képen a kéz és láb csontelváltozásait láthatjuk.

A beteg magassága a Klinefelter-syndromára nem jellemző, alacsonyabb, 153 cm magas, a fejindexe viszont kifejezett microcephaliát ($89,2 = \text{fejindex}$) mutat. A fiziognómiai arcindex is meglehetősen nagy, tehát arca is igen rövid. Megvizsgáltuk a szüleit, az anya is alacsony, 147 cm magas, a fejindexe megegyezik a fiáéval. Az édesapja magassága 161 cm, a fejindex mindössze kisfokú rövidfejűsége utal.

A fehérvérsejt tenyészetből chromosoma vizsgálatot végeztünk, két alkalommal, két hónap különbséggel. Először az anyánál és V. Gy.-nél 30–30 sejtet, az apánál 20 sejtet számoltunk. Két hónappal később 20–20 sejtet számoltunk. V. Gy.-nél 15%-ban találtunk 47 XXY chromosomát (II. táblázat 1. kép), 3%-ban találtunk V. Gy.-nél és anyjánál 47 chromosomát (anyánál 47 XX + acentrikus fragment, V. Gy.-nél 47 XY chromosoma volt).

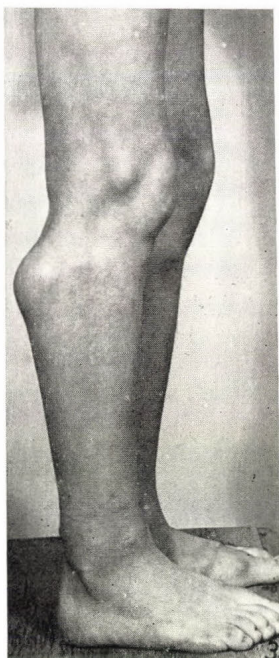
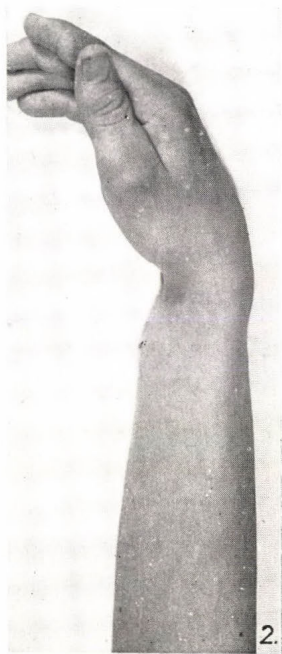
V. Gy.-nél 3%-ban 44 chromosomát (XY) láttunk, a 17-es mellett a 16-os chromosoma is hiányzott (III. táblázat). V. Gy.-nél normál chromosomaszám mellett 1 pq-, 16 pq + 20%-ban fordult elő (2. kép). Az anyánál ugyanezt a kiegyensúlyozott translokációt normál chromosomaszám mellett mintegy 10%-ban észleltük (1. kép). Az eset érdekessége, hogy az apánál is 1 q-, 16 q + kiegyensúlyozott transzlokáció volt mintegy 10%-ban (V. táblázat, 1. kép). Ezenkívül V. Gy.-nél nagy százalékban láttunk a C D chromosomákon gapp-ot, ami a csontelváltozásokkal lehet összefüggésben (II. táblázat, 2. kép).

Rosekrantz 1965-ben Klinefelter-syndromás gyermekeknél és anyánál szájnyalkehártya kenetből XX/XXX chromosoma anomáliákat írt le. Magunk a szájnyalkehártya kenetből az anyánál (VI. táblázat 2.) és V. Gy.-nél (1. képen) jól látható Barr-testet észleltünk. Ugyanezt periferiás vérkenetből igazolva láttuk. A 3. képen V. Gy., a 4. képen az anya kifejezett dobverő-képződményét látjuk.

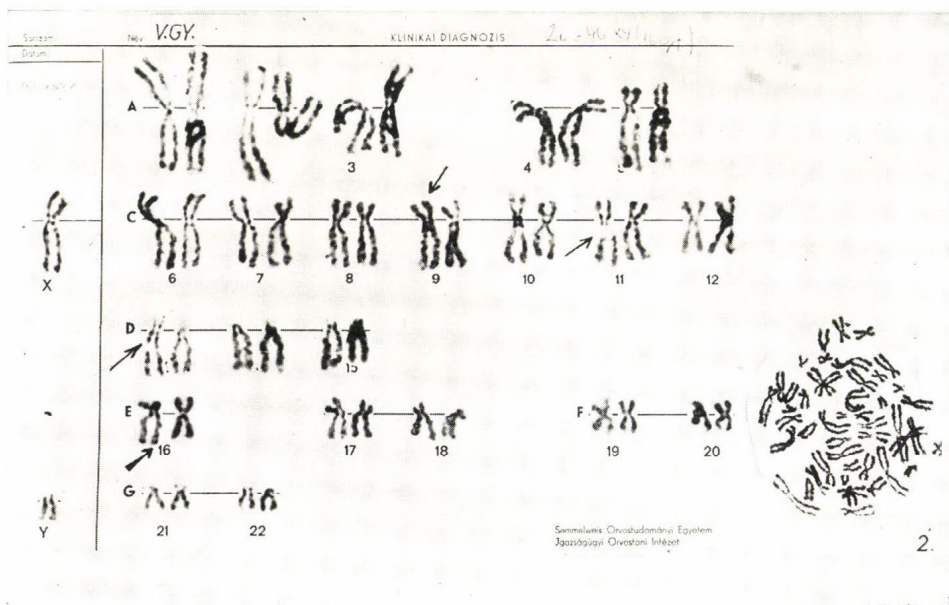
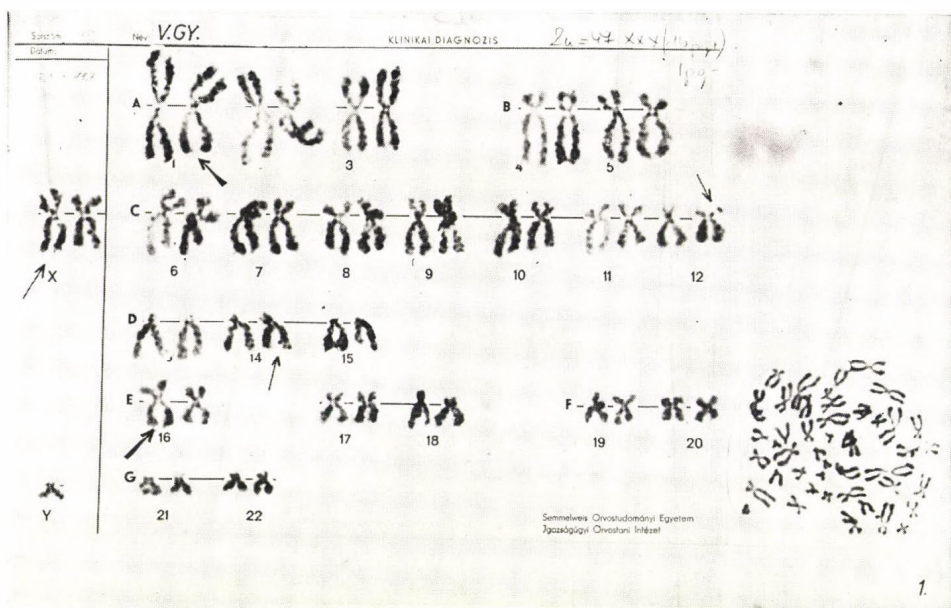
Az immunológiai vizsgálattal V. L.-né szérumában az IgG immunglobulin a normál érték felére csökkent, az IgA és az IgM viszont a duplájára szaporodott. V. Gy. szérumában hasonló mértékű IgM szaporulat volt, az apánál pedig szembetűnő az IgG és IgM együttes csökkenése, amelynek mértéke a semikvantitatív becslés alapján a normál érték egyharmada. A többi fehérjefrakciónál eltérést nem észleltünk.

A fénymikroszkóposan vizsgált herecsatornácskák atrophiasak, a spermatogenetikus alakok teljesen hiányoznak, az interstitiumban a Leydig-sejtek nagyfokú hyperplasiája látható (VII. táblázat, 4. kép, HE festés).

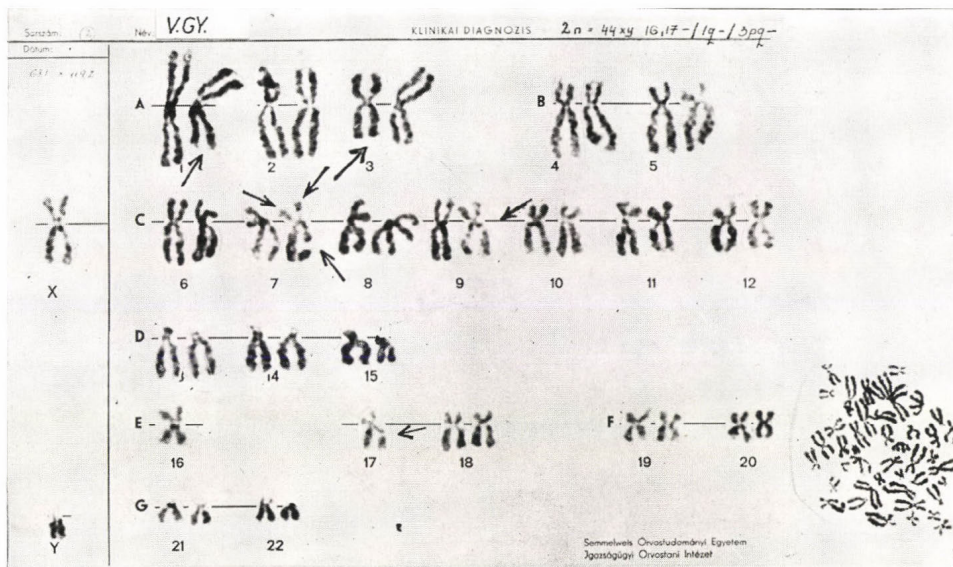
Elektronmikroszkóposan az interstitialis sejtekben a legjellegzetesebb az igen bőséges, sima felszínű endoplasmaticus reticulum, amely vesiculákat alkot. Szétszórtan tubulovesicularis mitochondriumok láthatók. Saját anyagunkban a sejteket kitöltő hatalmas vesiculatömegben kívül néhány sejtben ötszögletű, máshol pálcika alakú, belső periodicitású krisztalloidokra emlékeztető anyagot figyelhetünk meg. A lisosomák viszonylag ritkák. A cytoplasma matrix ribosomákban gazdag, sok collagen rost van, valamint ovoid és elongált mikrotetek láthatók (VII. táblázat, 1., 2., 3. kép).



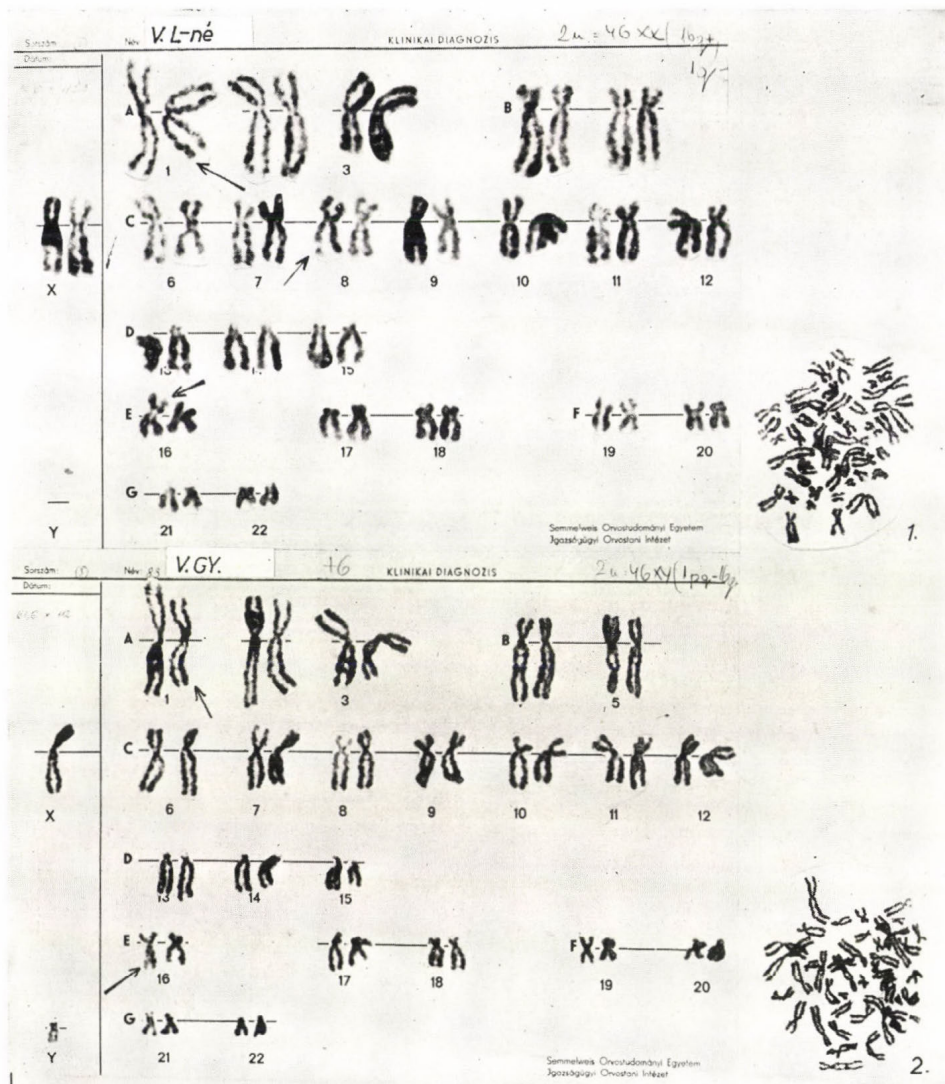
I. táblázat. 1. kép: V. Gy. 18 éves férfi, jól láthatók a nőies csípők és megfigyelhetjük a kp. fokú gynecomastiát. 2., 3., 4. kép: az alkaron, a lábszáron cartilaginaer exostosisokkal



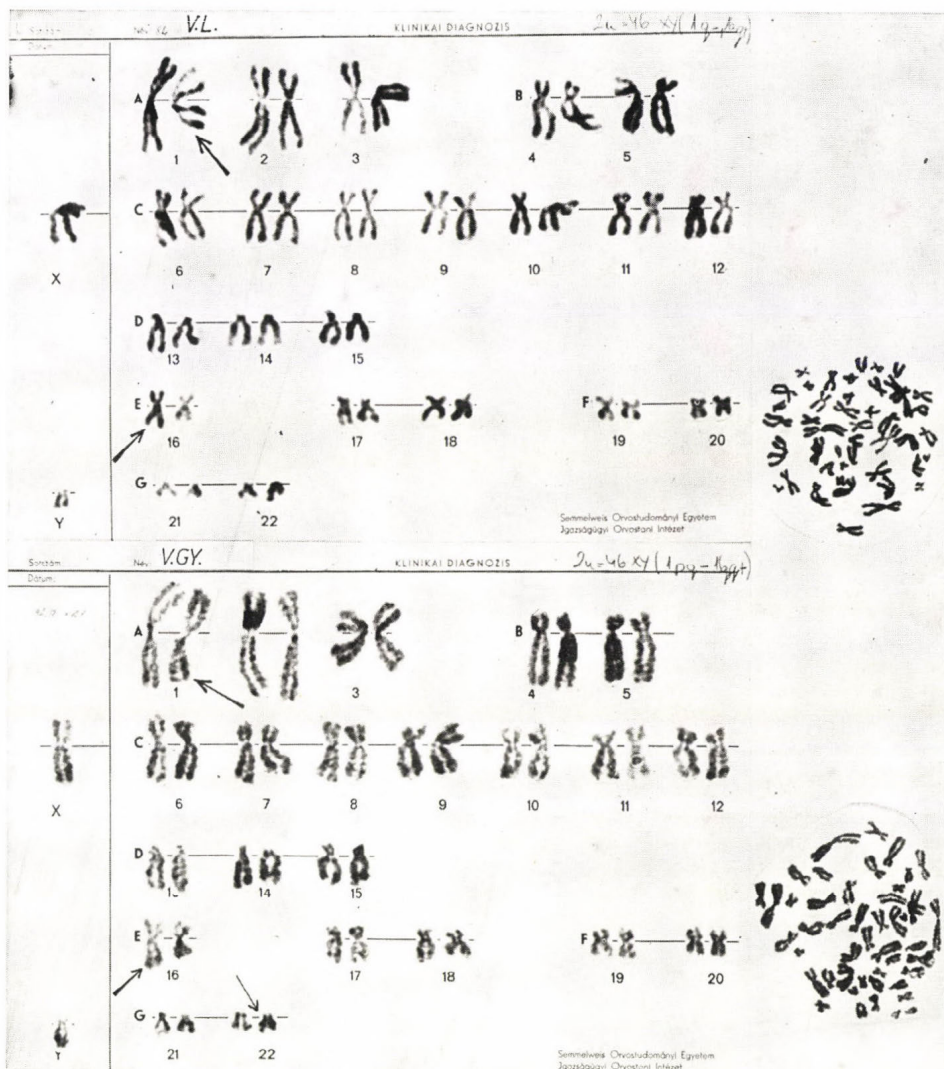
II. táblázat. 1. kép: $2n = 47, XXY$,
2. kép: $2n = 46, XY, V$. Gy. chromosoma képe



III. táblázat: $2n = 44 XY$ V. Gy. chromosoma képe



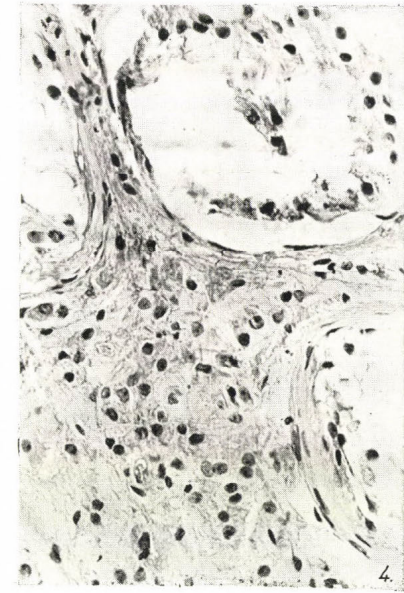
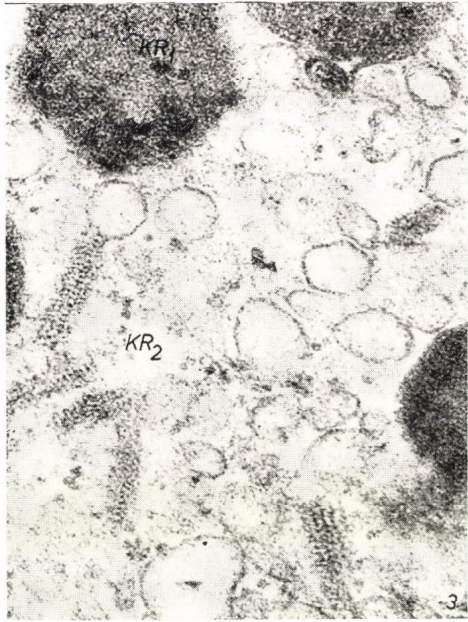
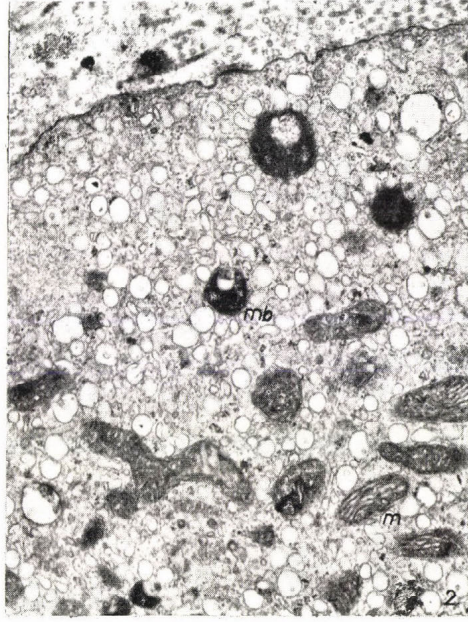
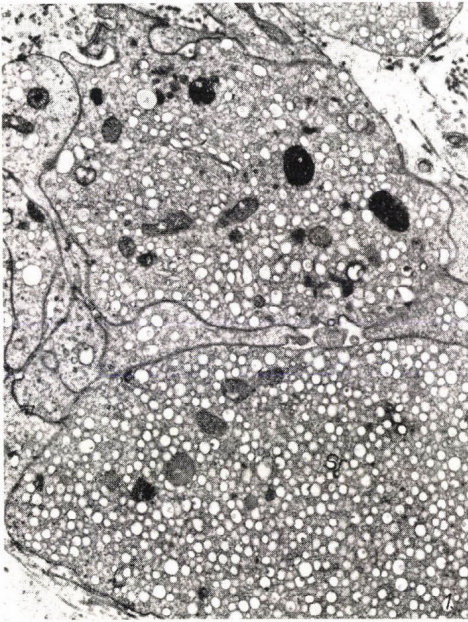
IV. táblázat. 1. kép: (V. L.-né) $2n = 46 XX (16q+, 1q-)$
2. kép: (V. Gy.) $2n = 46 XY (1pq-, 16q+)$



V. táblázat. 1. kép: (V. L.) $2n = 46, XY(1q-)$, $16q+$
 2. kép: (V. Gy.) $2n = 46, XY(1pq-)$, $16q+$



VI. táblázat az 1. képen V. Gy., a 2. képen az anya szájnyálkahártyájában jól látható a Barr-test a 3., 4. képen a periferiás vérkenetből készült (3. V. Gy., 4. az anyánál) preparátumon a dobverőképződmény jól észlelhető



VII. táblázat. 1., 2., 3. kép az elektronmikroszkópos felvételeken jól látható az igen bőséges sima felszínű endoplasmaticus reticulum, amely vesiculákat alkot. A sejteket szinte egyetlen hatalmas vesiculatömeg tölti ki. Sr = sima felszínű reticulum; m = mitochondrium, mb = mikrobody; Kr₁ és Kr₂ = kristalloid anyag
4. kép: fénymikroszkóposan a herecsatornácák atrophiasak, a spermatigenetikus alakok hiányoznak

Megbeszélés

Klinefelter 1942-ben írta le a következő tünetcsoportot: gynecomastia, aspermatogenesis, aleydigizmus nélkül. *Mirouze* és mtsai (1964) 5 esetben találtak Klinefelter-syndromában csökkent ACTH és TSH aktivitást, 2 esetben a chromosomakép XX/XXY és XXYY volt. *Nagy* és mtsai (1960) 8 hypogonadismusban szenvedő férfinél 4 esetben XXY-t találtak, egy betegnél a kór-képhez társuló retinitis pigmentosa (dominánsan öröklődik) segítségével igazolták, hogy a nondisunctio apai eredetű volt. *Ferguson* és mtsai (1966) X-Y chromosománál belső cserélődés jelenségét írták le, valódi hermaphroditismus és XX Klinefelter-syndromában. *Méhes* és mtsa (1967) 47 XXY Klinefelteres betegnél 24 esetben 20-ból tudta a sexchromatinokat (pozitivitás) diagnosztikus célból felhasználni. *Froland* és mtsa (1968) 78 beteget vizsgáltak, XX: 2 betegnél, XY/XX/XXY egy betegnél fordult elő. *Pencea* és mtsai (1969) egy sexchromatin pozitív beteget írnak le 12%-ban 44 XY, 81%-ban 44 XXY, 7%-ban 44 XXYY-t találtak. A beteg mentálisan retardált volt, Leydig-sejtes hyperplasiát írtak le. *Gendez* (1969) sexchromatin eltérés mellett 47 XXY chromosoma képet talált. *Francois* (1970) és mtsai 47 XXY/46 XX-t ismertettek. *Fleischmann* (1971) 3 saját esetről számolt be, a chromosomakép 47 XXY volt. *Piet H. Jungbloet* (1971) 317 újszülöttet vizsgált, 47 XXY mozaicizmus nélküli eseteket közölt. 30–40%-ban a syndroma már a spermatogenesisben rejlik. *Achmad* és mtsai (1971) a Leydig sejtek térfogatát és a chromatin funkcionális összefüggését vizsgálták Klinefelter syndromában. *Nicolis* és mtsai (1972) két monosigota ikernél férfi fenotípus mellett vérből, bőrből, szájnyálkahártyából 46 XX-et mutattak ki.

Az utóbbi években egyre gyakoribb a here elektronmikroszkópos vizsgálata (*Bawa* 1963, *Fawcett* és mtsa 1956, *Nagano* 1966). A human biopsiás anyagot feldolgozó elektronmikroszkópos tanulmányok száma azonban csekély (*Gordon* és mtsa 1964, *Karasek* és mtsa 1969, *Yamada* 1962, *Dennis* és mtsa 1970). A Klinefelter-syndromás betegek herebiopsiás anyagát ezideig alig vizsgálták (*Mattei* 1971, *Rubin* és mtsai 1971, *Rubin* 1971, *Saba* 1969). A korai vizsgálatok (*Lacy* 1962) mindössze a tubularis, basalis membranelváltozásokat ismertetik. Klinefelter-syndromában az interstitialis szövetben bekövetkező elváltozások a Leydig-sejtes adenomára emlékeztetnek (*Cervos-Nawarro* és mtsa 1963, *Dadoune* és mtsa 1967). A Leydig-sejtekben az ún. „mikro-bodyk” (peroxisomák) is találhatóak (*Reddy* és mtsa 1972 a.b.). A peroxisomák nagy számban a cytoplasmában perinucleárisan helyezkednek el, különböző alakúak, többnyire körkörösök, enyhén elongáltak. Feltehető, hogy a kifejezetten elongált formák endoplasmaticus reticulum tárgulatok. *Saba* és mtsa (1969) Klinefelter-syndromás betegeken két jellegzetes ultrastrukturális elváltozást különítenek el, a fuziformis és a poligonalis sejteket.

A fuziformis sejtek a fibroblastokra hasonlítanak, fő jellegzetességük a cytoplasmában található fibrillumok. A sejtekben a mitochondriumok gyakorta tartalmaznak lamellaris tarajokat. A poligonalis sejtek külső membranja három rétegű, az ovális nucleus finom granularis chromatint tartalmaz, amely főképpen perifériásan, néhol azonban centralisan kondenzálódik. A cytoplasmában bőséges sima falú endoplasmaticus vesiculák ismerhetők fel. Általában a vesiculák üreseknek látszanak, de előfordulhat, hogy kp. elektrodenzitászú amorph anyag tölti ki. A mitochondriumok kevés számúak és a sejtekben szétszórtan helyezkednek el, a cytoplasmában szabad ribosomák

és kevés páros membranból és vesiculákból álló Golgi-apparatus van. A polygonalis sejtekben a normális Leydig-sejtekhez hasonló kristalloid látszik, amely lehetséges, hogy a Renke-féle kristalloid precursora (Saba és mtsa 1969). Általában elfogadott nézet, hogy ezen kristályszerű képződmények specialis eloszlású fehérjemolekulákból állnak (Fawcett és mtsa 1956), azonban sem az összetétele, sem a funkciója nem tisztázott. Klinefelter-syndromában egyes szerzők (Saba és mtsa 1966) szerint a hypogonadismust nem annyira az androgen bioszintézis, vagy secretio súlyos defektusa, hanem inkább a here steroid hormontermelésének teljes lecsökkenése határozza meg (Mattei 1971, Rubin és mtsa 1971, Saba és mtsa 1969, Rubin 1971).

Saját anyagunkban a Leydig-sejtekben hatalmas simafelszínű endoplasmaticus reticulum tömeget találtunk, amely a Klinefelter-syndroma ultrastrukturális képének felel meg.

IRODALOM

1. AHMAD, K. N., DYKES, J. R. W. and FERGUSON-SMITH, M. A. (1971) Leydig cell volume in chromatin positive Klinefelter's syndrome. *J. Clin. Endocr.*, **33**, 517—520.
2. BAWA, S. R. (1962) Fine structure of the sertoli cell of the human testis. *J. Ultrastruct. Res.*, **9**, 459.
3. BELT, W. D. and PEASE, D. C. (1956) Mitochondrial structure in sizes of steroid secretion. *J. Biophys. Biochem., Cytol.*, **2**, 369.
4. CERVOS-NAVARRO, J., TONOTTI, J. and BAYER, E. (1964) Elektronmikroskopische Untersuchung eines androgenbildenden Leydigzell Tumors. *Endokrinologie*, **1—2**, 23—51.
5. DADOVNE, J. P., GALIAN, PH., STEG, A., GANTER, P. G. and ABELANET, R. (1967) Adenome du testicules a cellules de Leydig. Etude Histologique, Ultrastructurale, Histoenzymatique et Biochimique D'Uncas. *Arch. Anat. Path.*, **4**, 322—326.
6. FAWCETT, D. W. and BURGOS, M. H. (1956) The fine structure of sertoli cells in human testis. *Anat. Rec.*, **124**, 401.
7. FAWCETT, D. W. and BURGOS, M. H. (1956) *Ciba Found. Colloquia in Ageing* **2**, 86.
8. FERGUSON-SMITH, M.A. (1966) X-Y chromosomal interchange in the aetiology of true hermaphroditism and of XX Klinefelter's syndrome. *Lancet*, **2**, 475—476.
9. FLEISCHMANN, T. (1971) A chromasoma vizsgálat diagnosztikus alkalmazása Klinefelter syndromában. *Orv. Hetil.*, **112**, 1149—1150.
10. FRANCOIS, J., KAN LEVVEN, M. and GOMBAULT, P. (1970) Uveal coloboma and true Klinefelter syndrome. *J. Med. Genet.*, **7**, 213—223.
11. FROLAND, A., SANCER, R. and RACE, R. R. (1968) Xg blood groups of 78 patients with Klinefelter's syndrome and some of their parents. *J. Med. Genet.*, **5**, 161—164.
12. GENDEZ, E. (1969) Unbalanced chromosomes — unbalanced behaviour. *Med. Wld. News*.
13. GORDON, G. B., MILLER, L. R. and BENSCH, K. G. (1964) Electron microscopic observations of the gonad in the testicular feminization syndrome. *Lab. Invest.*, **13**, 152—160.
14. JÁKÓ J., TÓTH B. és SZIGETI, J. (1967) A titrációs immunoelektrophoresis és klinikai alkalmazása. *Magyar belorv. Arch.*, **3**, 120.
15. KARASEK, M. and PAWLIKOWSKI, M. (1969) The fine structure of Leydig cells in biopsy material from the human male gland. *Pol. Endocrin.*, **5—6**, 252—261.
16. KLINEFELTER, H. D. JR., REIFENSTEIN, E. C. JR. and ALBRIGHT, F. (1942) *J. Clin. Endocr.*, **2**, 615.
17. LACY, D. (1962) Certain aspects of testis structure and function. *Brit. Med. Bull.*, **19**, 205.
18. LACY, D. and JULIETDETTITT, A. (1970) Sizes of hormone production in the mammalian testis, and their significance in the control of male fertility. *Brit. Med. Bull.*, **26**, 87—91.
19. MATTEI, R. A. (1971) La cellule de leydig dans la maladie de Klinefelter en periodes pré-et post-pubertaires Etude en microscopie electronique. Reference al sujet normal. *Presse. Med.*, **79**, 1647.
20. MÉHES, K. and CSORDÁS, J. (1967) Catamnestic Evaluation of sex chromatin. Results in Intersexuality. *Acta Pead. Acad. Sci. Hung.*, **9**, 319—322.

21. MIROUZE, J., EMBERGER, J. M., JAFFIOL, C., JANBON, F. and BERNARD, R. (1964) Chromosomal and hormonal changes in 5 cases of Klinefelter's syndrome. *Ann. Endocrin. (Paris)*, **25**, 563—567.
22. MIROUZE, J., EMBERGER, J. M., JAFFIOL, C. and JANBON, F. (1964) Deux observations originales de syndrome de Klinefelter: Double male XXYY et Mosaïque XX/XXY. *Montpellier Méd.*, **66**, 230—236.
23. NAGY S., LEÖVEY A. és KAKUKK GY. (1966) Cytogenetikai vizsgálatok jelentősége a férfi hypogonadizmusok differenciáldiagnosztikájában. *Orv. Hetil.*, **107**, 1838—1840.
24. NAGANO, T. (1966) Some observations on fine structure of the sertoli cell in the human testis. *Z. Zellforsch.*, **73**, 89.
25. NICOLIS, G. L., HSU, L. Y. and SABETHADAM, R. (1972) Klinefelter's syndrome in identical twins with the 46, XX chromosome constitution. *Amer. J. Med.*, **52**, 482—491.
26. PENCEA, J., COVIC, M., ZBRANCA TOPORAS, E. and TEODORESCU, E. (1969) Klinefelter syndrome with XY/XXY/XXYY Mosaicism. *Stud. Cercet. Endocr.*, **20**, 169—176.
27. PIET, H. JONGBLOET (1971) Month of birth and gametopathy. An investigation into patients with Down's Klinefelter's and Turner's syndrome. *Clin. Genetics (Copenhagen)*, **2**, 315—330.
28. REDDY, J. and SVOBODA, D. (1972) Microbodies (Peroxisomes) in interstitial cells of rodent testis. *Lab. Invest.*, **26**, 657.
29. REDDY, J. and SVOBODA, D. (1972) Microbodies (Peroxisomes) identification in the interstitial cells of the testis. *Lab. Invest.*, **20**, 140—142.
30. ROSENKRANZ, W. (1965) Klinefelter-syndrom bei Kindern von Frauen mit Geschlechtschromosomen-Anomalien. *Helv. Paediat. Acta*, **20**, 359—368.
31. RUBIN, PH. (1971) Leydig cell lesions in Klinefelter's disease contribution of electron microscopy. *Rev. Fr. Endocrinol. Clin.*, **12**, 397—406.
32. RUBIN, PH., MATTEI, A., CESARINI, J. P., LATFARQUE, P. and VAGUE, J. (1971) Etude en microscopie électronique de la cellule de Leydig dans la maladie de Klinefelter en périodes pré- et post-pubertaires. *Ann. Endocrinol. (Paris)*, **32**, 671—687.
33. SABA, P., GAMBASSI, G., NOVI, A. and LUISI, M. (1969) Electron microscopy of the Leydig cells and hormone assays in Klinefelter's syndrome. *Endocrinologie*, **55**, 129—144.
34. SCHEIDEGGER, J. J. (1955) Une microméthode de l'immunoélectrophorese. *Int. Arch. Allergy*, **7**, 103.
35. YAMADA, E. (1962) Some observations on the fine structure of the interstitial cell in the human testis. Fifth International Congress for electron microscopy, New York, and London Academic Press.

ДАННЫЕ К ГЕНЕТИЧЕСКОЙ, ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ И УЛЬТРАСТРУКТУРАЛЬНОЙ КАРТИНЕ СИНДРОМА КЛИНЕФЕЛЬТЕРА

Дб. Буйдошо, И. Балог, С. Отто и С. Чонка

У восемнадцатилетнего больного синдромом КLINEФЕЛЬТЕРА было выявлена положительность 44 XY/45/XXY/46 XY/47 XXY полового хроматина, а в сыворотке увеличение количества иммуноглобина М. Под световым микроскопом наблюдали атрофию канальцев яичка, полное отсутствие клеток сперматогенеза и метаплазию клеток Лейдига в интерстиции. При электронной микроскопии в интерстициальных клетках обнаружили обильное количество эндоплазматического ретикулума с гладкой поверхностью, который образовал везикулы.

ANGABEN ZUR GENETISCHEN, IMMUNOLOGISCHEN UND ULTRASTRUKTUREN BETRACHTUNG DES KLINEFELTER-SYNDROMAS

Gy. Bujdosó, I. Balogh, Sz. Ottó und S. Csonka

Die Verfasser haben an einem 18 jährigen Patient Sexchromatin-Positivität, 44 XY/45 XXY/46 XY/47 XXY und eine Erhöhung des IgM-Inhaltes im Serum gefunden. Sie haben durch Lichtmikroskop — neben der Atrophie der Hodenkanäle — die volle Abwesenheit jeglicher Formen des Spermatogenesis und im Interstitium die Metaplasie der Leydig-Zellen wahrgenommen. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen konnte man in den interstitialen Zellen eine grosse Anzahl von Vesiculum-bildenden endoplasmatischen Retikuli mit glatter Oberfläche feststellen.

A KLOOROPLASZTISZ GENETIKÁJA

I. A plasztisz citológiai folytonossága és információs rendszere

GYURJÁN ISTVÁN

ELTE Származás- és Örökléstan Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1973. november 28-án

Bevezetés

A kloroplasztisz a növényi sejt olyan strukturális és funkcionális egyisége, amely fényenergia felhasználásával képes szervesanyagokat előállítani. Magasabbrendű növényekben a kloroplasztisz fejlődése három fázisra bontható.

Ezek: 1. multiplikáció (önmegkettőződés), 2. differenciáció (a fotoszintézis strukturális és funkcionális elemeinek kialakulása), 3. teljes kompartmentáció (fotoszintetikus aktivitás).

Az első két fázisra vonatkozó ismereteink az utóbbi években jelentősen kibővültek, de még ma is sok a tisztázatlan kérdés a probléma genetikai vonatkozásait illetően.

A jelen kutatások két alapvető kérdés köré csoportosíthatók: 1. milyen mechanizmus szerint történik a kloroplasztisz önreprodukcója, genetikai folytonossága; 2. milyen belső (genetikai) és külső feltételek biztosítják a funkcióképes kloroplasztisz kialakulását. E kérdések tisztázására megvan a lehetőség, mivel a plasztiszok olyan nagy sejtorganellumok, melyeknek morfológiai vonásai még az intakt sejtekben is jól tanulmányozhatók. A sejtből könnyen izolálhatók és fiziko-kémiai sajátásaik, valamint összetételük részletekbemenően felfedhetők.

A plasztiszok eredete és citológiai folytonosságának a problémája

A plasztiszok citológiai folytonosságának az elméletét a múlt század 80-as éveiben SCHIMPER és MEYER állította fel, mely szerint a plasztisz egy már meglevő plasztisz osztódása útján jön létre. A plasztisz folytonosságának ez a formája több algánál megfigyelhető (1. a, b ábra).

A kutatók többsége egyetért abban, hogy a kloroplasztiszok folytonossága a magasabbrendű növényeknél is osztódással valósul meg (LANCE—NOUGAREDE 1960), noha a korábbi adatok csupán a proplasztiszok osztódására utalnak (2. ábra).

Annak ellenére, hogy a sejt mitotikus osztódásakor, azzal egyidőben vagy azt megelőzve, a plasztiszok is osztódnak, nem jelenti feltétlenül, hogy valamilyen kapcsolat lenne a sejtmag és a plasztiszok osztódása között. Pl. B₁₂ vitaminhiány esetén az *Euglena* sejtekben a kloroplasztiszok osztódnak

a sejt nem (CARELL 1969). Több irodalmi adat bizonyítja, hogy a plasztisz a sejten kívül *in vitro* is osztódik (RIDLEY és LEECH 1969).

A plasztiszok osztódásának sebességét a plasztiszban lokalizálódó genetikai rendszer irányítja, amelyet a nukleáris rendszer, a genom módosíthat. Érdemes megjegyezni, hogy a plasztiszok multiplikációjának erélye az evolúció során fokozatosan nőtt (CLELAHN 1958).

SHIMPER és MEYER elméletét, vagyis a plasztiszok citológiai folytonosságának egyszerű osztódás útján történő megvalósulását egyes citológusok nem fogadták el. Fő ellenvetésük az volt, hogy a merisztematikus szövetekben a plasztiszokat, pontosabban a proplasztiszokat nem lehet megkülönböztetni a mitokondriumoktól. MÜHLETHALER és FREY-WYSSLING (1959) a merisztematikus szövet sejtjeiben kis vezikulumokat tudott elkülöníteni a proplasztiszokon és a mitokondriumokon kívül. Feltételezésük szerint a proplasztiszok és a mitokondriumok ezekből a kis vezikulumokból képződnek.

MENKE (1960) *Elodea* hajtástenyészőkúp iniciálisaiiban elektronmikroszkóppal el tudta különíteni a proplasztiszokat más citoplazma testekből. Lényegében ezt igazolják BUVAT (1958) elektronmikroszkópos vizsgálatai is, melyek az *Elodea canadensis* merisztematikus sejtjeiben a proplasztiszok osztódására utalnak.

Ezek az ellentétes vélemények lényegében elvezetnek ahhoz a kérdéshez: képződhet-e plasztisz *de novo* vagy sem?

MÜHLETHALER és BELL (1962), BELL és MÜHLETHALER (1962) *Pteridium aquilium* petesejt elektromikroszkópos vizsgálatai során azt találták, hogy a petesejt érésekor a sejtorganellumok eliminálódnak és *de novo* képződnek a sejtanyagából. A megtermékenyítés után a már kialakult organellumok osztódással szaporodnak. Hasonló jelenséget észlelt CAMEFORT (1962) *Pinus laricio*-val végzett kísérleteiben is.

A kérdés azonban nem ilyen egyértelmű. DIERS (1964, 1965, 1966 a, b) *Sphaerocarpus*-szal, MENKE és FRICKE (1964) *Dryopteris*-szel és JENSEN és mti. (1964) *Gossypium*-mal végzett elektronmikroszkópos vizsgálatai nem igazolják az előbbi szerzők azon megfigyeléseit, hogy a plasztiszok és mitokondriumok eltűnnek az oogenezis során, valamint azt sem, hogy ezek az organellumok *de novo* a sejtanyagból képződnek. A degeneráció helyett inkább a proplasztisz osztódás különböző fázisait figyelhették meg a petesejt képződése során. Elképzelhető azonban, hogy a gyors osztódás mellett a plasztisz belső struktúrája nem alakul ki, és ez tűnik egy destruktív folyamatnak.

Felvetődik az a kérdés, hogy lehet-e egyenlőségjelet tenni a plasztisz mint sejtorganellum citológiai folytonossága és annak genetikai információja folytonossága között? Valójában, a plasztisz osztódása során a struktúra degenerálódhat, de ez nem gátolhatja a genetikai anyag átadódását.

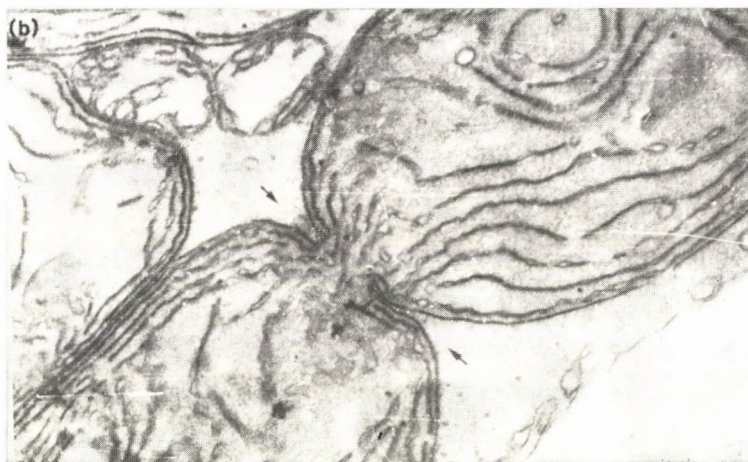
A plasztikus DNS és jelentősége

a) Extranukleáris genetikai faktorok

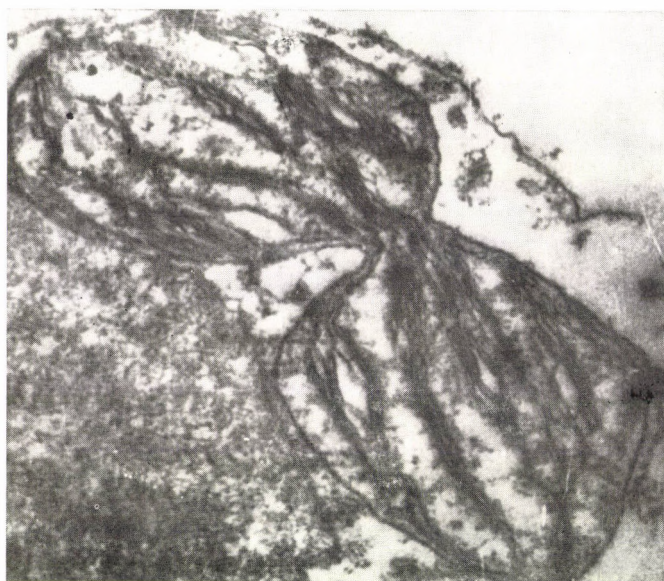
1909-ben CARL CORRENS (1909) közölte először a nem kromoszomális gének létezését, illetve az ő terminológiája szerint, a nem-mendeli genetikai faktorok jelenlétét. Az erre vonatkozó vizsgálatait a „Nicht mendelnde Vererbung” című 1937-ben megjelent monográfiájában gyűjtötte össze (CORRENS 1937).



1a) ábra. *Matteuccia struthiopteris* (struccpáfrány) osztódó kloroplasztisz. (KIRK és TILNEY-BASSET 1967)



1b) ábra. *Lomentaria baileyana* (vörös alga) osztódó kloroplasztisz. (KIRK és TILNEY-BASSET 1967)



2. ábra. *Chrysanthemum segetum* (Compositae) kloroplasztisz osztódás közben (KIRK és TILNEY-BASSETT 1967)

Magasabbrendű növényekben a kloroplasztisz szerkezetét és funkcióját két, nem kromoszomális genetikai rendszer kontrollálja a *plastome* és a *plasmon*. E tényezők kémiai szerkezetének tanulmányozása még ma is széleskörűen folyik, mutációs hatásuk biokémiai elemzése nem könnyű feladat. Akciójukat nemcsak a kloroplasztiszban, hanem pl. a mitokondriumokban is kifejtik (ERIKSSON és mti. 1961, WETTSTEIN 1959).

RENNER (1929, 1934) szerint a *plastome* vagy *plastidom* faktor magában foglalja mindazokat az extranukleáris genetikai tényezőket, melyek a plasztiszban lokalizáltak és biztosítják annak formális fenotípusát. A *plasmon* vagy *citoplasmon* faktorok a plasztiszon kívül foglalnak helyet.

Az extranukleáris tényezők mutációját tanulmányozó munkákból kitűnik, hogy a *plastome* és *plasmon* faktorok elsősorban a plasztiszok funkcióképességét biztosítják. Szabályozzák a lamelláris szerkezet kialakulását és a más organellumokkal való kontaktust (WETTSTEIN 1961).

Az extranukleáris tényezők jellegeket átörökítő képességének fő sajátosságai: a) nem mendeli öröklődést mutatnak, b) reciprok keresztezés után a jellegek reciprok megjelenése figyelhető meg, c) a genetikai faktorok szegregációja (sorting out) jellemző.

b) Plasztiszon belüli öröklődési egységek megkülönböztetése

A genotípus, a kromoszómák genetikai anyaga génekben oszlik meg. A gének az információ tartalom funkcionális egységei. Kérdés, vajon vannak-e a *plastom*-on belül öröklődési egységek. Korábban a kérdés megközelítését mutációs vizsgálatok segítették (STUBBE és WETTSTEIN 1955, DOLZMANN 1968, DÖBEL 1964). *Oenothera*-ban különböző mutáns *plastome* faktorok fordulnak elő. Ezek akciója eredményeként a levelek világoszöld variegációt mutatnak, máskor sárga vagy fehér pigmentációjúak. *Antirrhinum*-ban több zöld-fehér variegációs vonal fordul elő, melyek különböző eredetűek. Ezek a plasztiszok (*plastome*-ok) még egy sejten belül is egymástól teljesen függetlenül léteznek, nincs közöttük fenotípusos ráhatás. A különböző *plastome* mutánsokban a sejtm metabolizmus különböző helyeken blokkolt (SCHÖTZ 1954, WILD 1959).

A plasztisz genetikai anyagának szerveződésére többféle elképzelés született, melyek elemzése a plasztisz mutációk elemzésével lehetséges.

Plastome mutációk spontán keletkeznek (MALY 1958, HAGEMANN 1964) és indukcióval is kiválthatók (MICHAELIS 1958, 1965, DULIEU 1967, KUTZELNIGG 1968).

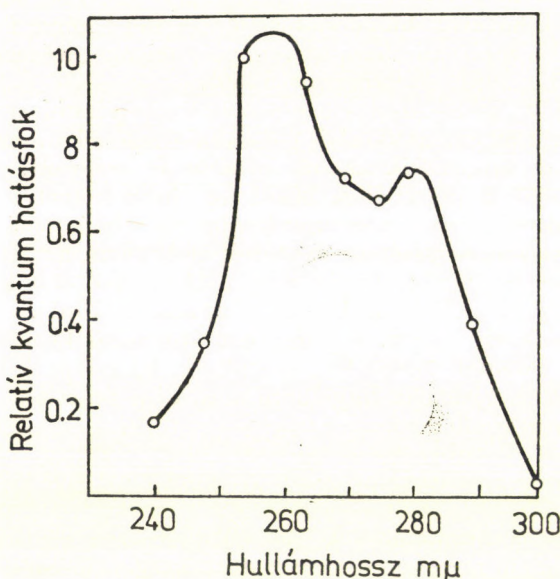
HERRMANN (1968, 1969) felveti a lehetőséget, hogy a kloroplasztiszok poliploidok, vagyis minden benne található DNS-fonal tartalmazza a *plastome* mintáját. Ennek megoszlása akkor állapítható meg, amikor egy egyszerű mutáció fenotípusosan is manifesztálódik. A poliploid jelleg akkor jellemezhető igazán, ha lehetőség van a különböző plasztisz típusok rekombinációjára.

SAGER és RAMANIS (1968 a, B, 1969) *Chlamydomonas reinhardtii*-nál figyelte meg az extrakromoszomális gének rekombinációját. Magasabbrendű növényeknél ezt nem sikerült kimutatni.

c) Plasztisz DNS eredete

GIBOR és GRANICK (1962) *Euglena*-ban UV sugárral szelektíven kezelte a sejtmagot és a citoplazmát. A citoplazma besugárzásakor a sejtek gyorsan

kifehéredtek. A sejtmagot besugározva ilyen kifehéredés nem tapasztalható. (3. ábra)



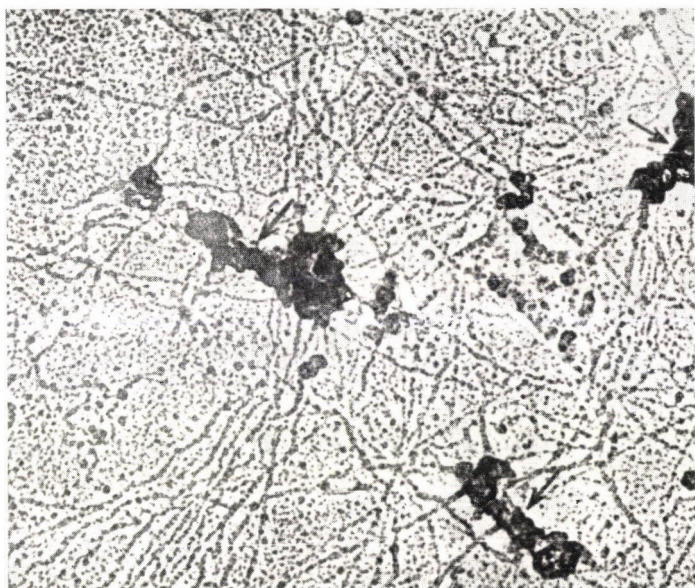
3. ábra. *Euglena gracilis* sejtek UV besugárzással indukált kifehéredésének akcióspektruma. (KIRK és TILNEY-BASSETT 1967)

Ez és számtalan más, így pl. hisztokémiai, elektronmikroszkópos, autoradiográfiai és ultracentrifugás vizsgálat kimutatta a DNS jelenlétét a kloroplasztiszban. (4. ábra)

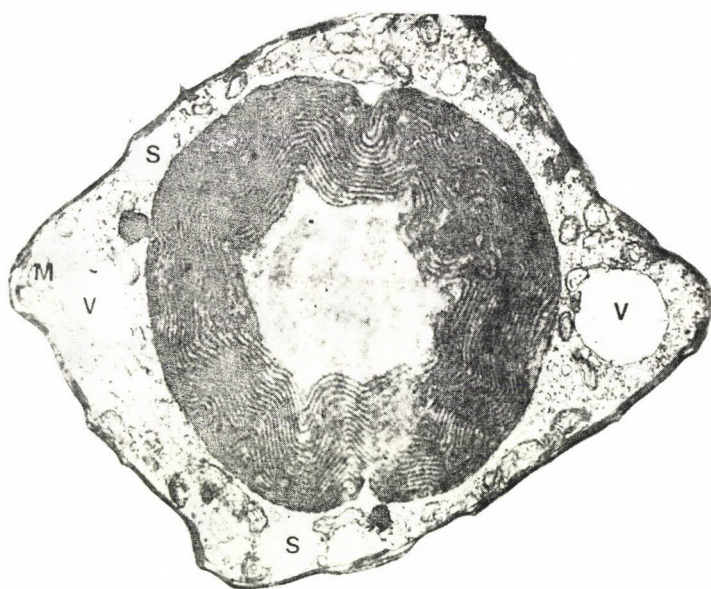
A plasztisz DNS eredetére vonatkozóan két elképzelés született. Az egyik az episzóma elmélet, amely azt mondja, hogy a kloroplasztisz DNS, a mag DNS-ből származik, pontosabban a *prokarionta* szervezetek genomjából. A másik elképzelés szerint a plasztisz DNS a prokarionta fotoszintetizáló sejt-ből (kékes-zöld alga, fotoszintetizáló baktérium) származik, amely endoszimbiontaként rögződött a klorofillt nem tartalmazó eukarionta sejtben.

Az első elképzelést támasztja alá az a tény, hogy nincs lényeges különbség a kloroplasztisz és a mag DNS között. A DNS-DNS és az DNS-RNS hibridizációs elemzések kimutatták, hogy a mag és a kloroplasztisz DNS-ben homológ bázisszekvenciák léteznek (RICHARDS 1967, TEWARI és WILDMAN 1967).

A kloroplasztisz DNS sok vonatkozásban hasonlít a baktérium DNS-hez. Így pl. 1. plasztisz DNS és a baktérium DNS elektromikroszkópos képe hasonló, 2. egy kloroplasztiszra, illetve baktériumsejtre eső DNS mennyisége hasonló, 3. az 5-metilcitozin mindkét DNS féleségben hiányzik, 4. az egyébként DNS-hez kapcsolódó hisztonok a plasztisz, illetve a bakteriális DNS-ben nem találhatók, 5. a kloroplasztisz és a bakteriális DNS szintézise nalidixin savval szemben igen érzékeny.



4. ábra. Borsó kloroplasztiszból izolált DNS-membrán komplex. (OGYINCÓVA és mti 1970)



5. ábra. *Cyanophora paradoxa* sejt keresztmetszet, benne a „szimbionta” plasztisz. M = mitokondrium; S = keményítő szem; V = vakuolum. (SCHNEPF, E. 1966)

A szimbionta elmélet alátámasztására a 60-as években több vizsgálatot végeztek (RIS és PLANT 1962). Ezek szerint a kloroplasztiszok és a kékes-zöld moszatok több vonatkozásban megegyeznek egymással; 1. méretükben, 2. lipidtartalmukban, 3. pigment-fehérje komplex sajátságokban, 4. a DNS és riboszóma sajátságaiban, 5. antibiotikumokkal szembeni ellenállóképességben.

A szimbiozisban a gazdanövény lehet: *Cryptophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Phycomycetes*.

A szimbionta elmélet jó példája a *Cyanophora paradoxa* (*Cryptosomonad*). Ennek a moszatnak megszokott sajátsága a kékes-zöld algával való szimbionta életmód. Ez utóbbi a szimbionta életre való áttérés során elvesztette sejtfalát, kloroplasztiszként funkcionál és osztódik. (5. ábra)

Szimbiozisra egysejtű algák is képesek. Ilyen pl. *paramecium-chlorella* szimbiozis (KRAKASHIAN 1968). Ebben a szimbiozisban nagyfokú az integrálódás (pl. szinkronizált osztódás). Ez azonban azt is jelenti, hogy ebben az integrációban a gazda és a szimbionta szervezet elveszti önállóságát. LEECH (1968) kimutatta az algák és magasabbrendű növények plasztiszainak összehasonlítása során, hogy a magasabbrendű növényekben a plasztiszok filogenetikai rendben fokozott fotoszintetikus aktivitást mutatnak, fokozatosan a sejtmag kontrollja alá kerülnek.

A szimbionta elméletnek is vannak olyan pontjai, melyeket nehéz megmagyarázni. Így pl. nehéz értelmezni azt, hogyan vehetnek részt a *genomban* lokalizált gének a plasztisz struktúra kialakulásában. Olyan adatok is vannak, hogy a plasztisz DNS polimeráz enzim nukleáris gén kontrollja alatt áll (DRLICA és KNIGHT 1971, GILES és TAYLOR 1970).

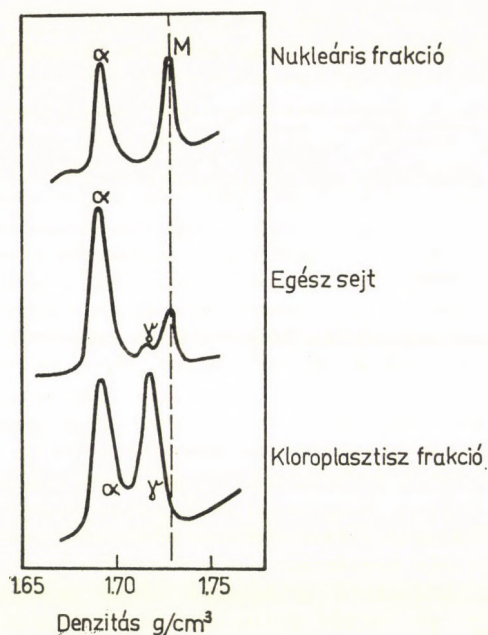
d) A plasztisz DNS főbb sajátságai

A kloroplasztiszból 2 normál HClO_4 segítségével izolálható DNS plasztisz szárazsúlyra vonatkoztatott tartalma 0,01–1,0% (BIGGINS és PARK 1964) CsCl -os sűrűséggrádiens centrifugálással a spenót és bablevelek DNS frakciója egy nagy (α) és két kis (β , γ) komponensre bontható (CHUN és mti. 1963). A nagy komponens nukleáris, a kis komponensek plasztisz eredetűek. (6. ábra) A fentiekből látható, hogy a kloroplasztiszokból izolált DNS frakció az esetek többségében nukleáris DNS-t is tartalmaz. Nehéz eldönteni, hogy az izolált plasztiszokból kinyert DNS frakcióban jelenlévő nukleáris DNS a nukleáris fragmenteknek a kloroplasztiszban való abszorpciójával kapcsolatos-e, illetve a nukleáris DNS valóban *in vivo* kapcsolatban van a kloroplasztisszal.

A kloroplasztisz DNS adenin:guanin aránya magasabb, mint a mag DNS-ben. KIRK (1963 a, b) vizsgálata szerint ez az arány a kloroplasztisz DNS-ben átlagban 1,67; a mag DNS-ben 1,57. Egysejtű szervezetekben és magasabbrendű növényekben is kimutatták, hogy a plasztisz DNS-ben a guanilsav mellett a citozinsav tartalom is alacsonyabb (BISWAS és BISWAS 1963, RUPPEL 1964). Magasabbrendű növények plasztisz DNS-ében a guanin + citozin (GC) tartalom 37,5%, a DNS sűrűsége CsCl grádiensben 1,695 g . cm⁻³.

Euglena gracilis-ben a G + C tartalom 25%, a DNS sűrűsége 1,685 g . cm⁻³, valamint a *Chlamydomonas reinhardi*-ban a G + C tartalom 36% a DNS sűrűsége 1,695 g . cm⁻³.

A kloroplasztisz DNS 5-metilcitozint nem tartalmaz, hőölvadás utáni renatuációja a mag DNS-énél lényegesen gyorsabb.



6. ábra. CsCl-os sűrűséggradiens centrifugálással szétválasztott DNS frakciók UV abszorpciós képe. (KIRK és TILNEY-BASSETT 1967)

A mag és a kloroplasztisz eredetű DNS közötti különbségeket az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat
Dohánylevelekből izolált kloroplasztisz és mag DNS egyes tulajdonságai közötti különbség (Wildmann 1971)

Tulajdonság	Kloroplasztisz	Sejtmag
Levél összes DNS %	9	90
DNS/db organellum	9×10^{-15} g	100×10^{-5} g
Sűrűség CsCl-ben ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	$1,700 \pm 0,001$	$1,697 \pm 0,001$
Renaturáció	teljes	nem teljes
5-metilcitozin tartalom	hiányzik	2–5%
Hisztontartalom	hiányzik	jelen van
Transzkripció mértéke ($\mu\text{mol RNS/óra}$) $\mu\text{g DNS}$)	40	1,2

e) Plasztisz DNS lokalizációja

Magasabbrendű növényekben elektronmikroszkópos és autoradiográfias elemzésekkel kimutatták, hogy a kloroplasztiszban véletlen eloszlásban DNS mikrofibrillumok fordulnak elő (GUNNING, 1965, KISLEV és mti. 1965).

Az elektronmikroszkópos vizsgálatot nehezíti, hogy ezek a DNS tartalmú struktúrák (mikrofibrillum) csak kevésbé elektronsűrű területeken láthatók,

jóval elektronsűrűbb struktúrák árnyékolják. Ez a tény nehezíti annak az eldöntését, hogy a DNS a kloroplasztisznak egy meghatározott részére lokalizálódik, vagy az egész plasztisz területén eloszlik. Feltehetően 3–6 jól elkülöníthető mikrofibrillum figyelhető meg. WOODCOCK és FERNANDEZ-MORAN (1968) szerint a kloroplasztiszban előforduló DNS fonal teljes hosszúsága $150\ \mu$, melynek molekulásúlya 30×10^7 és a granum és intergranum lamellához egyaránt kötődhet. *Euglena gracilis*-ben a kloroplasztisz DNS-nek kb. egyharmada kör alakú molekulát képez, melynek körvonalhosszúsága $40\ \mu$. Ez megfelel $0,83 \times 10^8$ dalton molekulásúlynak és elegendő ahhoz, hogy a kloroplasztisz teljes információs rendszerét magába zárja. (MANNING és mti. 1971). Feltételezhető, hogy egy poliploidizált plasztiszban több ilyen kör alakú (kromoszómaszerű) DNS molekula fordul elő.

Ochromonas danica sárga algában (SLANKIS és GIBES 1968), valamint *Sphacelaria* barna algában (BISALPUTRA és BISALPUTRA 1969) a plasztisz DNS kör alakú. BISALPUTRA és BURTON (1969, 1970) elektronmikroszkópos megfigyelései a *Sphacelaria*-nál kimutatták, hogy a kloroplasztisz DNS több darabból áll. Ezek a DNS darabok $14\ \mu$ hosszú hurkokat képeznek, és egy helyen szorosan tapadnak a lamellarendszerhez. *Acetabularia mediterranea* kloroplasztiszok 70%-ban csaknem teljesen hiányoznak a DNS fibrillumok. Amennyiben a DNS jelen van a plasztiszban, az egy vagy két darabban fordul elő; összhosszúsága 200–400 μ (WOODCOCK és BOGORAD 1970).

A kloroplasztisz DNS tartalma 10^{-11} – 10^{-12} g között változik (KIRK 1963 a). Mint ahogyan azt WOODCOCK és BOGORAD (1970) kimutatta az egyes kloroplasztiszok DNS tartalma nem egyforma. A számítások szerint az egy plasztiszra eső 10^{-14} g DNS mennyiség elegendő ahhoz, hogy kódolja az összes plasztisz protein szintézist.

A plasztisz DNS tartalmának megbecsülése függ az alkalmazott módszertől. A módszernek két összetevője van: a) a biztos extrakció; b) a pontos mennyiségi meghatározás. A rendelkezésre álló módszerek közül jelentős a KLEINSCHMIDT és mti. (1962) által kifejlesztett módszer, ahol a DNS hosszúsága elektronmikroszkóposan meghatározható. Az ozmotikusan feltárt plasztiszokban megfigyelhető, hogy a DNS szorosan kötődik a membránrendszerhez, a gránum — és intergránum membránokhoz (WOODCOCK és FERNANDEZ-MORAN 1968). *Tradescantia* levelek plasztiszaiból óvatos extrakcióval kinyert, zömében lineáris DNS molekulák különböző hosszúságúak (ÜPPHADAYHA és GRUN 1968). Ezek a zömében rövid molekulák arra utalnak, hogy az extrakció során azokat fizikai és enzimatisz degradáció éri.

f) *A kloroplasztisz DNS szintézise*

Az új DNS plasztiszon belüli komplett szintézisét demonstrálni igen nehéz. Az *in vivo* kísérletek nyitva hagyják a sejtmag közreműködésének lehetőségét, míg az izolált plasztiszok DNS bioszintézisre csak korlátozott mértékben használhatók fel. A plasztiszok tartalmazzák a DNS polimerázt, így képesek DNS replikációra.

DNS szintézis vizsgálata *in vivo*

Euglena és *Chlamydomonas* szinkron osztódó sejtjeivel végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a kloroplasztisz és a nukleáris DNS a sejtnövekedés

különböző stádiumaiban replikálódik. PETROPOLUS (1964) és COOK és HUNT (1965) az *Euglena* sejtek szinkron növekedését sötét és fény periódusok váltogatásával biztosította és meghatározták, hogy a sejtnövekedés mely fázisában mutatkozik kifehéredés UV besugárzás hatására. Az UV érzékeny szakaszt azzal a periódussal azonosították, melyben a kloroplasztisz DNS túlnyomóan szimpla fonalas állapotban van, vagyis replikálódik. COOK (1966) autoradiográfiás vizsgálatai kimutatták, hogy a ^3H -adenin beépülés maximuma a fényperiódus elején és végén figyelhető meg. Véleménye szerint e két maximum a kloroplasztisz, ill. a nukleáris DNS szintézisének a beindulását jelzi. MEMELSON és STAHL (1958) CHIANG és SUEOKA (1967) ^{15}N és ^{14}N felhasználásával végzett vizsgálatai jól demonstrálják, hogy a *Chlamydomonas reinhardi* kloroplasztisz DNS-e fényperiódusban, míg a sejtek osztódása és a mag DNS replikációja a növekedés sötét fázisában történik.

Dohány csíranövények a ^{32}P -t gyorsabban építik be a kloroplasztisz DNS-be, mint a mag DNS-be (GREEN és GORDON 1966). Ez arra utal, hogy a kloroplasztisz DNS „turn over”-e független a mag DNS-től.

DNS szintézis izolált kloroplasztiszokban

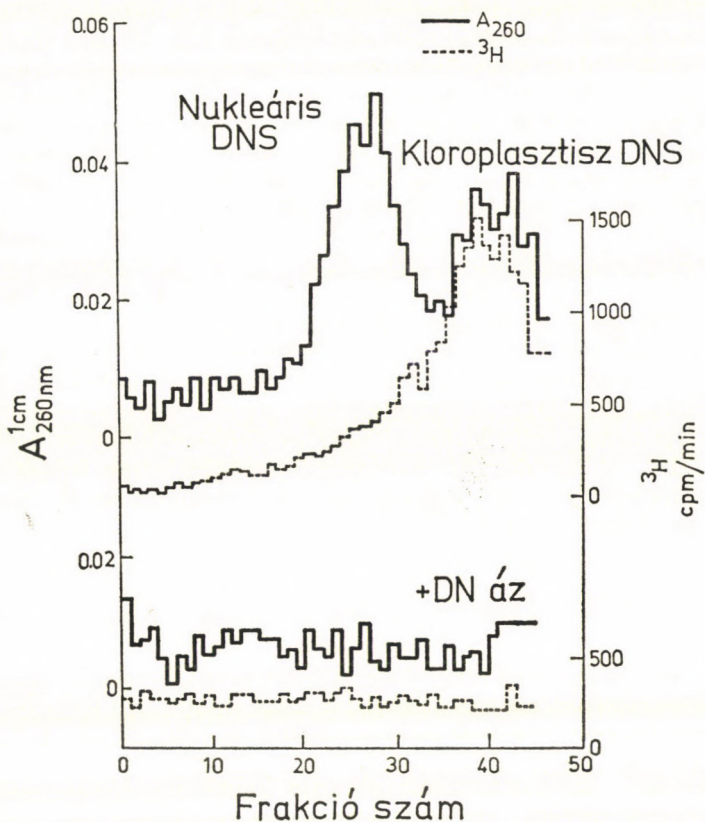
SPENCER és WHITFIELD (1967) izolált kloroplasztiszokkal végzett vizsgálataiban azt találta, hogy azok gyorsan beépítik a ^3H -timidin-5'-trifoszfátot egy sav stabil frakcióba. DN-áz-zal és aktinomycin-D-vel előkezelt plasztiszokban a beépülés gátolt. Ezekből a vizsgálatokból az is kitűnik, hogy a beépült aktivitás a kloroplasztikus DNS-ben jelentkezett. Hasonló eseményekről számolt be TEWARI és WILDMANN (1966) is, akik a ^3H -adenozin és ^3H -timidin-5'-trifoszfát beépülését figyelték meg a dohány kloroplasztiszok DNS frakciójában. A jelzett terméket CsCl-grádius-centrifugálása és a denzitás mérések minden kételyt kizáróan a kloroplasztisz DNS jelződésére utalnak. Az újonnan képződött ^3H -DNS-el végzett hibridizációs vizsgálatok azt mutatják, hogy a kloroplasztisz DNS-el több közös bázisszekvenciával rendelkezik, mint a nukleáris DNS-el. A ^3H -DNS bázis aránya is a kloroplasztisz DNS-éhez volt hasonló.

A kloroplasztisz DNS szintézisét *Euglena* izolált kloroplasztiszjaiban SCOTT és mti. (1968) mutatták ki. A kloroplasztisz és nukleáris DNS CsCl-os grádienscentrifugálással történő szétválasztásával azt találták, hogy kis-mértékben a nukleáris DNS is jelződött, aminek konkrét okára nem tudtak rámutatni. Az azonban bizonyos, hogy itt a mag DNS nem mint „primer” szerepel, a plasztisz DNS képződése saját mechanizmus szerint történik (7. ábra).

g) DNS—RNS hibridizáció

SCOTT és SMILLIE (1967) hibridizációs kísérleteiben kimutatta, hogy az *Euglena gracilis*-ből izolált kloroplasztisz DNS kódolja a kloroplasztisz eredetű 23S és 16S riboszomális RNS-t. A számítások szerint a riboszomális RNS kódolására 20—45 cisztron áll rendelkezésre kloroplasztisz DNS-ként. A citoplazmatikus riboszomális RNS kötődése nem mutatható ki.

INGLE és mti. (1971) *Beta vulgaris cicla* csíranövényekkel végzett hibridizációs eredményeit a 2. táblázat mutatja be.



7. ábra. Izolált *Euglena* kloroplasztiszok DNS szintézise. Az izolált kloroplasztiszokat ^3H -timidin-5'-trifoszfáttal inkubálták, a nukleáris és kloroplasztisz DNS-t gradienscentrifugálással választották el. Az ábra alsó felén a DN-ázzal kezelt frakció látható gradienscentrifugálás után. (SCOTT és mti. 1968)

2. táblázat

Citoplazmatikus és kloroplasztisz RNS hibridizációja nukleáris és kloroplasztisz DNS-sel

DNS és RNS eredete	Hibridizációs %
Nukleáris DNS + citoplazma RNS	0,3
Kloroplasztisz DNS + kloroplasztisz RNS	1,5
Kloroplasztisz DNS + citoplazma RNS	0,3
Nukleáris DNS + kloroplasztisz RNS	0,3

A táblázatból látható, hogy a nukleáris DNS a citoplazmatikus RNS közötti hibridizáció 0,3%-os. Ez 6.000 cisztronnak felel meg egy diploid magban, amely $2,5 \times 10^{-12}$ g DNS-t tartalmaz. A kloroplasztisz RNS és a kloroplasztisz DNS közötti hibridizáció jóval nagyobb, 1,5%. Ez plasztiszonként 30 cisztront jelent. Mivel a répa egy sejtje 200 kloroplasztiszt tartalmaz, így sej-

tenként kb. 6.000 cisztronnal lehet számolni. A kloroplasztisz DNS és citoplazma RNS közötti hibridizáció 0,3%-os, vagyis a hibridizáció mértéke csak 20% a plasztiszból izolált RNS-éhez képest. Ugyanilyen mértékű hibridizáció mutatkozik a nukleáris DNS és a kloroplasztisz RNS vonatkozásában is. TEWARI és WILDMAN (1968) adatait is figyelembe véve levonható az a következtetés, hogy a kloroplasztisz RNS szintéziséért felelős cisztronok a sejtmagban és a kloroplasztiszban egyaránt előfordulnak. A vizsgálatok arra utalnak, hogy ezek a cisztronok eltérő típusúak.

A kloroplasztisz DNS és a kloroplasztiszból izolált transzfer RNS (tRNS) hibridizáció mértéke 0,4–0,7%, vagyis a kloroplasztisz DNS 20–30 tRNS kódolására alkalmas (TEWARI és WILDMAN 1968). A kloroplasztisz riboszomális RNS jelenléte kompetíciót nem idéz elő.

A kloroplasztisz DNS és a messenger RNS (mRNS) közötti transzkribíció indirekt módon igazolható oly módon, hogy az *in vitro* körülmények között képződő RNS képes-e a DNS-el hibridizálódni. Az erre vonatkozó kísérletekből (TEWARI és WILDMAN 1968) kitűnik, hogy az említett komponensek közötti hibridizáció 21%. A genomnak lényegesen nagyobb része íródik át, mint amilyen az rRNS-el és tRNS-el ekvivalens. A kloroplasztisz DNS-nek tehát potenciális lehetősége van mRNS készítésére.

Összefoglalás

A növényi sejtekben a kloroplasztiszok önállóan osztódnak. Kimutatták a sejten kívüli *in vitro* osztódásukat is. A genom elsősorban az osztódásuk sebességét befolyásolja.

Vita folyik a kloroplasztiszok *de novo* képződése körül, mivel egyes szerzők véleménye szerint a petesejt érésekor a plasztisz eltűnik és a megtermékenyítés során újra képződik a sejtmagból. Mások inkább a proplasztiszok, illetve plasztiszok gyors osztódásával magyarázzák a látszólagos destrukciót. A gyors osztódás mellett a plasztisz belső struktúrája nem alakulhat ki. A vita kapcsán felvetődik az a kérdés, hogy lehet-e egyenlőségjelet tenni a plasztisz mint sejtorganellum citológiai folytonossága és annak genetikai információja folytonossága között. Vagyis választ kell adni a plasztisz DNS eredetére vonatkozóan.

Erre két hipotézis született. Az egyik az epizóma elmélet, mely szerint a kloroplasztisz DNS a mag DNS-ből származik, míg a másik elképzelés az ún. szimbionta elmélet szerint a plasztisz DNS a prokarióta fotoszintetizáló sejtől származik, amely endoszimbiontaként rögződött a klorofillt nem tartalmazó eukarióta sejtben. Mindkét elméletnek vannak pozitív és negatív bizonyítékai.

A kloroplasztiszban lokalizálódó DNS a plasztisz száraz súlyának 0,01–1,0%-t teszi ki. Egyes fiziko-kémiai sajátságokban és nukleotid összetételben különbözik a mag DNS-től. A plasztiszon belül a DNS lamelláris rendszerhez kötődik. A vizsgálatok szerint egynél több DNS fibrillum figyelhető meg. A számítások szerint egy plasztiszra eső DNS mennyiségnek minimuman 10^{-14} g-nak kell lennie ahhoz, hogy kódolni tudja az összes plasztisz protein szintézisét. A plasztisz DNS képződése saját mechanizmus szerint történik. A plasztiszban saját DNS-polimeráz működik. Tehát ebben a DNS

szintézisben a mag DNS „primer”-ként nem szerepel. A hibridizációs vizsgálatok azt mutatják, hogy a kloroplasztisz DNS-nek potenciális lehetősége van messenger RNS készítésére.

IRODALOM

- BELL, P. R., MÜHLETHALER, K. (1962) The fine structure of cells taking part in biogenesis in *Pteridium aquilinum*. *J. Ultrastr. Res.*, **7**, 425—466.
- BIGGINS, J., PARK, R. B. (1964) Nucleic acid content of chloroplasts of spinach isolated by a non-aqueous technique. *Nature*, **203**, 425—426.
- BISALPUTRA, T., BISALPUTRA, A. A. (1969) The ultrastructure of chloroplasts of a brown alga *Sphacelaria* sp. I. Plastid DNA configuration — the chloroplast genophore. *J. Ultrastruct. Res.*, **29**, 151—170.
- BISWAS, S., BISWAS, B. B. (1963) Characterization of DNA from spinach chloroplasts. *Science and Culture*, **29**, 618—619.
- BUVAT, R. ref.: KIRT, J. R. O., TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1967) The Plastids. p. 80. Freeman and Co., London.
- CAMEFORT, H. (1962) L'organisation du cytoplasme dans l'oosphère et la cellule centrale du „*Pinus laricio*” Poir. (var. austriaca). *Ann. Sci. nat. Bot. et biol. Végét.* 12e Sér. **3**, 265—291.
- CARELL, E. P. (1969) Studies on chloroplast development and replication in *Euglena*. *J. Cell. Biol.* **41**, 431—440.
- CHIANG, K. S., SUEOKA, N. (1967) Replication of chloroplast DNA in *Chlamydomonas reinhardtii* during vegetative cell cycle; its mode and regulation. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **57**, 1506—1513.
- CHUN, E. H. L., VAUGHAN, M. H., RICH, A. (1963) The isolation and characterization of DNA associated with chloroplast preparations. *J. Mol. Biol.*, **7**, 130—141.
- CLELAND, R. E. (1958) The evolution of the North American oenotheras of the „*biennis*” group. *Planta* (Berl.), **51**, 387—398.
- COOK, J. R. (1966) The synthesis of cytoplasmic DNA in synchronized *Euglena*. *J. Cell. Biol.*, **29**, 369—373.
- COOK, J. R., HUNT, W. (1965) Ultraviolet bleaching of synchronized *Euglena*. *Photochem. Photobiol.*, **4**, 877.
- CORRENS, C. (1909) Zur Kenntnis der Rolle von Kern und Plasma bei der Vererbung. *Z. Vererbungsl.*, **2**, 331—340.
- CORRENS, C. (1937) „Nicht Mendelnde Vererbung” *Handb. d. Vererbungswissenschaft*, Bd. II. H. (ed.: WETTSTEIN F. von) Gebrüder Bornträger Verl., Berlin.
- DIERS, L. (1964) Bilden sich während der Oogenese bei Moosen und Farnen die Mitochondrien und Plastiden aus dem Kern? *Ber. dt. bot. Ges.*, **77**, 369—371.
- DIERS, L. (1965) Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Eizellbildung und Eizellreifung des Lebermooses *Sphaerocarpus donnellii*. *Aust. Z. Naturforsch.*, **20**, b 795—801.
- DIERS, L. (1966a) Über die Vermehrung von Plastiden und Mitochondrien während der Oogenese von *Sphaerocarpus*. In: Probleme der Biologischen Redublikation. (STITTE, P.) pp. 227—243. Springer Verlag, Berlin.
- DIERS, L. (1966b) On the plastids, mitochondria, and other cell constituents during oogenesis of a plant. *J. Cell. Biol.*, **28**, 527—543.
- DOLZMANN, P. (1968) Photosynthese-Reaktionen einiger Plastom-Mutanten von *Oenothera*. III. Strukturelle Aspekte. *Z. Pflanzenphysiol.*, **58**, 300—309.
- DÖBEL, P. (1964) Über die Plastiden einer Herkunft des *status albomaculatus* von *Antirrhinum majus* (L.). *Z. Vererbungsl.*, **95**, 226—235.
- DRLICA, K. A., KNIGHT, C. A. (1971) Inhibition of chloroplast DNA synthesis by cycloheximide. *J. Mol. Biol.*, **61**, 629—641.
- DULIEU, H. (1967) Sur les différents types de mutations extranucléaires induites par le méthane sulfonate d'éthyle chez *Nicotiana tabacum* (L.). *Mutation Res.*, **4**, 177—189.
- ERIKSSON, G., KAHN, A., WALLIS, B., WETTSTEIN, D. VON (1961) Zur makromolekularen Physiologie der Chloroplasten. III. *Ber. dt. bot. Ges.*, **74**, 221—232.

- GIBOR, A., GRANICK, S. (1962) The Plastid system of normal and bleached *Euglena gracilis*. *J. Protozool.*, **9**, 327—334.
- GILES, K. L., TAYLOR, A. O. (1970) The controll of chloroplast division in *Funaria hygrometrica* I. Patterns of nucleic acid, protein and lipid synthesis. *Plant Cell. Physiol.*, **12**, 437—445.
- GREEN, B. R., GORDON, M. P. (1966) Satellite DNA's of some higher plants. *Biochim. Biophys. Acta*, **145**, 378.
- GUNNING, B. E. S. (1965) The fine structure of chloroplast stroma following aldehyde-osmium tetroxid fixation. *J. Cell. Biol.*, **24**, 79—93.
- HAGEMANN, R. (1964) Plasmatische Vererbung. In: Genetik, Grundlagen, Ergebnisse und Probleme in Einzeldarstellungen (ed.: H. STUBBE) Vol: **4**, Jena: VEB Gustav Fischer Verlag.
- HERRMANN, R. G. (1968) Chloroplastengrösse und inkorporierte ³H-Thymidinmenge. Autoradiographische Studien zur Frage: Gibt es genetisch mehrwertige Chloroplasten? *Ber. dtsch. bot. Ges.*, **81**, 332.
- HERRMANN, R. G. (1969) Are plastids polyploid? *Exp. Cell. Res.*, **55**, 414—416.
- INGLE, J., WELLS, R., POSSINGHAM, J. V., LEAVER, C. J. (1971) The origins of chloroplast ribosomal-RNA. In: Symposion of Autonomy and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplasts. (ed.: N. K. BOARDMAN, A. W. LINNAE, R. M. SMILLE) pp. 393—401. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
- JENSEN, A., AASMUNDUD, O., EIMHJELLEN, K. E. (1964) Chlorophylls of photosynthetic bacteria. *Amer. J. Bot.*, **52**, 781.
- KARAKASHIAN, S. J. (1968) Electronmicroscopic observations on the symbiosis of *Paramecium bursaria* and its intracellular. *J. Protozool.*, **15**, 113—128.
- KIRK, J. T. O. (1963a) The deoxyribonucleic acid of broad-bean chloroplasts. *Biochem. J.*, **88**, 45.
- KIRK, J. T. O. (1963b) The deoxyribonucleic acid of broad-bean chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **76**, 417—424.
- KIRK, J. T. O., TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1967) The plastids. W. H. Freedman and Co. London—San Francisco.
- KISLEV, N., SWIFT, H., BOGORAD, L. (1965) DNA from chloroplasts and mitochondria of swiss chard. *J. Cell. Biol.*, **25**, 327—333.
- KLEINSCHMIDT, A. K., LANG, D., JACHERTS, D., ZAHN, R. K. (1962) Darstellung und längenmessungen des gesamten Desoxyribonucleinsäureinhaltes von T₂-Phagen. *Biochim. Biophys. Acta*, **61**, 857—864.
- KUTZELNIGG, H. (1968) Versuche zur Auslösung von Plastommutationen bei *Oenothera*. Dissertation Universität Düsseldorf.
- LANCE-NOUGAREDE, A. (1960) Developpement inframicroscopique des chromoplastes, au cours de l'ontogenese des fleurs liquées de *Chrysanthemum segetum* (L). *Compt. rend. Acad. Sci. Paris*, **250**, 173—175.
- LEECH, R. M. (1968) In: Plant Cell Organells (ed.: J. B. PRIDMAN) p. 137. Acad. Press., London.
- MALY, R. (1958) Die Mutabilität der Plastiden von *Antirrhinum majus* L. *Z. Vererbungsl.*, **89**, 692—696.
- MANNING, J. E., WOLSTEHONLME, D. R., RYAN, R. S., HUNTER, J. A., RICHARDS, O. C. (1971) Circular Chloroplast DNA from *Euglena gracilis*. *Proc. natl. Acad. Sci.*, **68**, 1169—1173.
- MENKE, W. (1960) Einige Beobachtungen zur Entwicklungsgeschichte der Plastiden von *Elodea canadensis*. *Z. Naturf.*, **15b**, 800—804.
- MENKE, W., FRICKE, B. (1964) Beobachtungen über die Entwicklung der Archegonien von *Dryopteris filix mas*. *Z. Naturforsch.*, **19b**, 520—524.
- MESELSON, M., STAHL, F. W. (1958) The replication of DNA in *E. coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **44**, 671—683.
- MEYER, A. (1883) Das Chlorophyllkorn in chemischer morphologischer und biologischer Beziehung. Felix Verlag, Leipzig.
- MICHAELIS, P. (1965) Beiträge zum Problem der Plastidenabänderung *Z. Botan.*, **52**, 382—426.
- MICHAELIS, O. (1958) Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbfräger, besonders, der Plastiden. *Planta*, **51**, 600—634.
- MÜHLETHALER, K., FREY-WISSLING, A. (1959) Entwicklung und Structur der Proplastiden. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, 507—512.
- MÜHLETHALER, K., BELL, P. R. (1962) Untersuchungen über die Kontinuität von Plastiden und Mitochondrien in der Eizelle von *Pteridium aquilinum* (L.). *Naturwiss.*, **49**, 63—64.

- OGYINCOVA, M. C., MIKULSKA, E. I., TURISCSEVA, M. S. (1970) Forma, razmeri i lokalizácia DNK v citoplazmaticeszkih strukturah. Funkcionaja Biochimija (red.: A. I. OPARIN) 62—62., Izd. Nauka, Moskva.
- PETROPOLOS, S. F. (1964) Ultraviolet inactivation of chloroplast information in synchronously dividing *Euglena gracilis*. *Science*, **145**, 392—393.
- RENNER, O. (1929) Artbastarde bei Pflanzen. Handbuch der Vererbungswissenschaft. Bd. II/A. Gebrüder Bornträger Verlag, Berlin.
- RENNER, O. (1934) Die pflanzlichen Plastiden als selbständige Elemente der genetischen Konstitution. *Bei. Verhandl., Sachs. Akad. Wiss. Leipzig. Math-phys. Kl.*, **86**, 241—266.
- RICHARDS, O. C. (1967) Hybridization of *Euglena gracilis* chloroplast and nuclear DNA. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **71**, 156—163.
- RIDLEY, S. M., LEECH, R. M. (1969) Chloroplast survival in vitro. *Progress in Photosynth. Res.*, **1**, 229—244.
- RIS, H., PLAUT, W. (1962) Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*. *J. Cell. Biol.*, **13**, 383—391.
- RUPPEL, H. G. (1964) Über Nucleinsäuren in Chloroplasten von *Allium porrum* und *Antirrhinum majus*. *Biochim. Biophys. Acta*, **80**, 63—72.
- SAGER, R., RAMANIS, Z. (1963) Recombination of nonchromosomal genes in *Chlamydomonas*. *Proc. natl. Acad. Sci.*, **53**, 1053—1061.
- SAGER, R., RAMANIS, Z. (1968) Recombination analysis of cytoplasmic genes in *Chlamydomonas*. *Genetics*, **60**, 219.
- SCHIMPER, A. F. W. (1883) Über die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. *Bot. Ztg.*, **41**, 105, 121, 137, 153, 809.
- SCHÖTZ, F. (1954) Über Plastidenkonkurrenz bei *Oenothera*. *Planta*, **43**, 182—240.
- SCOTT, N. S., SMILLIE, R. M. (1967) Evidence for the direction of chloroplast ribosomal RNA synthesis by chloroplast DNA. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **28**, 598—603.
- SCOTT, N. S., SHAH, V. C., SMILLIE, R. M. (1968) Synthesis of chloroplast DNA in isolated chloroplasts. *J. Cell. Biol.*, **38**, 151—157.
- SLANKIS, T., GIBBS, S. P. (1968) Localization of chloroplast DNA in a single peripheral ring-shaped nucleoid in *Ochromonas danica*. *J. Cell. Biol.*, **39**, 126 a.
- SCHNEPT, E. (1966) Die Kompartimentierung der Zelle in morphologischer Sicht. *Biol. Rdsch.*, **4**, 259—275.
- SPENCER, D., WHITFIELD, P. R. (1967) Ribonucleic acid synthesizing activity of spinach chloroplasts and nuclei. *Arch. Biochem.*, **212**, 236—345.
- STUBBE, W., WETTSTEIN, D. VON (1955) Zur Struktur erblich verschiedener Chloroplasten von *Oenothera*. *Sonderabdruck*, **2**, 241—250.
- TEWARI, K. K., WILDMAN, S. G. (1966) Chloroplast DNA from tobacco leaves. *Science*, **153**, 1269—1271.
- TEWARI, K. K., WILDMAN, S. G. (1967) DNA polymerase in isolated tobacco chloroplasts and nature of the polymerised product. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **58**, 689—696.
- TEWARI, K. K., WILDMAN, S. G. (1968) Function of chloroplast DNA. I. Hybridization studies involving nuclear and chloroplast DNA with RNA from cytoplasmic (80 S) and chloroplast (70 S) ribosomes. *Proc. natl. Acad. Sci.*, **59**, 569—576.
- UPPHADAYNA, K. C., GRUN, P. (1968) Structure and form of chloroplast DNA. *J. Cell. Biol.*, **39**, 138.
- WETTSTEIN, D. VON (1959) Developmental changes in chloroplasts and their genetic control. In: *Developmental Cytology*. (ed.: D. RUDNICK) pp. 123—160. Ronald Press Co., New York.
- WETTSTEIN, D. VON (1961) Nuclear and cytoplasmic factors in development of chloroplast structure and function. *Canad. J. Bot.*, **39**, 1537—1545.
- WILD, A. (1959) Untersuchung zweier albomaculater Linien von *Antirrhinum majus* auf ihr Verhalten in Teilreaktionen der Photosynthese. *Beitr. Biol. Pflanz.*, **35**, 137—175.
- WILDMAN, S. G. (1971) An approach towards ascertaining the function of chloroplast DNA in tobacco plants. In: *Symp. on Autonomy and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplasts*. (ed.: N. K. BOARDMAN, A. W. LINNANE, R. M. SMILLIE) pp. 402—412. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
- WOODCOCK, C. L. F., BOGORAD, L. (1970) Evidence for variation in the quantity of DNA among plastids of *Acetabularia*. *J. Cell. Biol.*, **44**, 361—375.
- WOODCOCK, C. L. F., FERNANDEZ-MORAN, H. (1968) Electron microscopy of DNA conformations in spinach chloroplasts. *J. Mol. Biol.*, **31**, 627—631

ГЕНЕТИКА ХЛОРОПКАСТА

I. ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ НЕПРЕРЫВНОСТЬ ПЛАСТОВ И ИХ ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА

И. Дюрьян

Хлоропласты в растительных клетках делятся самостоятельно. Было выявлено, что *in vitro* они делятся также вне клеток. Геномы влияют в первую очередь на скорость их деления.

Идет дискуссия о *de novo* возникновении хлоропластов, так как по мнению некоторых авторов они исчезают во время созревания яйцеклетки и снова образуются из ядра во время оплодотворения. Другие это объясняют быстрым делением пропластидов и хлоропластов. В связи с деструкцией возникает вопрос, можно ли поставить знак равенства между цитологическим постоянством органелл и между их непрерывностью генетических информационных, т. е. надо объяснить происхождение ДНК пластидов. В связи с этим возникли две гипотезы: согласно первой, по теории эписомы, ДНК хлоропластов происходит из ДНК ядер, по другой, по теории симбиоза, ДНК пластов происходит из фотосинтезирующих клеток прокариот, которые как эндосимбионты закрепились в клетках эукариотов, несодержащих хлорофил. Оба теории имеют положительные и отрицательные доказательства.

ДНК, находящаяся в хлоропластах, составляет 0,01—1 процентов их сухого веса. По некоторым физико-химическим свойствам и составу нуклеотидов она отличается от ДНК ядер. В пластидах она связана с ламеллярной системой. По данным исследований можно наблюдать больше, чем одну нить (фибриллу) ДНК. Вычислили, что количество ДНК в одном пласте должно быть не меньше чем 10^{-14} гр. для того, чтобы могла кодировать синтез всех белков пластидов. Синтез ДНК в пластидах происходит по собственному механизму, в них функционирует своя полимераз ДНК. Таким образом ДНК ядер не играет роль в синтезе ДНК пластидов. Опыты по гибридизации показывают, что ДНК хлоропластов имеет потенциальную возможность для синтеза мессенжер-РНК.

GENETICS OF CHLOROPLASTS

I. Cytological continuity and informational system of the chloroplasts

I. Gyurján

Chloroplasts divide by oneself in plant cells. Their extracellular *in vitro* division has also been shown. First of all the velocity of their division is influenced by the genom. There is a controversy on the *de novo* formation of chloroplasts, since according to certain authors during the maturation of the ovum the chloroplasts disappear and in the course of fertilisation are regenerated from the nucleus.

Others explain the apparent destruction with rapid proplast and chloroplast division instead of the destruction itself. The controversy raises the question whether the cytological continuity of the chloroplast as an organell and the continuity of genetic information of that are identical i.e. we have to give an answer concerning the DNA origin of chloroplasts.

Two hypotheses were created to answer this question. According to the "episome theory" the chloroplast DNA derives from nuclear DNA. The other so called "symbiont theory" suggests that chloroplast DNA comes from the prokaryote photosynthesizing cell, which fixed as endosymbiont in the chlorophyll free eukaryote cell.

Both theories have positive and negative proofs. DNA localized in the chloroplast reaches 0,01—1,0% of the dried weight of the chloroplast. It differs from nuclear DNA in certain physicochemical properties and nucleotid composition. Within the chloroplast the DNA is bound to the lamellar system. According to the investigations more than one DNA fibrilles can be observed. The DNA quantity necessary for coding all the chloroplast proteins is as a minimum 10^{-14} g, as the calculations show. The chloroplast DNA synthesis takes place by its own mechanism.

In the chloroplast its own DNA-polymerase works, thus the nuclear DNA does not play the role of "primer" in this DNA synthesis. Experiments on hibridisation showed the potential ability of chloroplast DNA for messenger RNA synthesis.

A KLOOROPLASZTISZ GENETIKÁJA

II. A plasztisz fehérjeszintetizáló rendszere

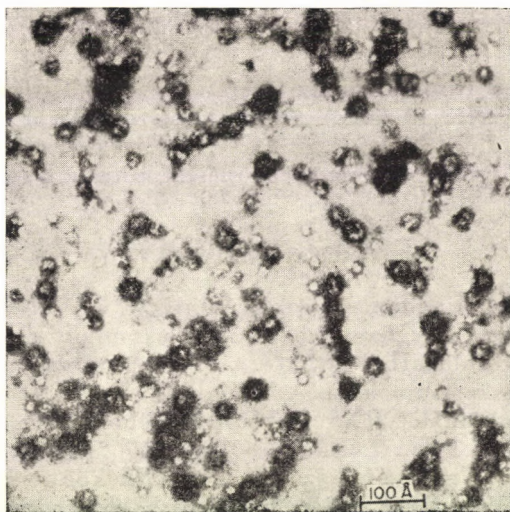
GYURJÁN ISTVÁN

ELTE Származás- és Örökléstani Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1973. december 2-án

A kloroplasztisz riboszómák

A zöld növényyszövetekben kétféle típusú riboszóma, a 70s és a 80s fordul elő. 1962-ben Lyttleton fedezte fel a spenót kloroplasztiszokban lokalizált 70s riboszómákat és megállapította, hogy azok kisebb méretükön túlmenően, protein összetételükben is különböznek a 80s citoplazma riboszómáktól (Lyttleton 1968). Hasonló megfigyeléseket végezt Odintsova és Yurina (1969), búza- és bablevelék kloroplasztiszaiból izolált riboszómákkal kapcsolatban is (1. ábra).



1. ábra. 70s kloroplasztisz riboszómák. A kisebb világosabb partikulum Frakcio I. protein. (Karlsson és mti. J. mol. Biol. 17: 487, 1966)

A riboszómák saját és alegységük, valamint RNS-ük szedimentációja alapján 3 csoportba sorolhatók (1. táblázat).

A 70s kloroplasztisz riboszóma strukturálisan a baktérium és a kékeszöld algák 70s riboszómáihoz hasonló. Így pl. Stutz és Noll (1967) azt találta, hogy a bab kloroplasztiszokból izolált riboszómák semmiben sem különböznek az *Escherichia coli* riboszómáktól.

1. táblázat
A riboszómák osztályozása

Riboszóma eredete	„s” érték		RNS
	riboszóma	alegység	
Állati citoplazma	80	60,40	29,18
Növényi citoplazma	80	60,40	25,18
kloroplasztisz	70	50,20	23,16
Baktérium	70	50,30	23,16

A kloroplasztisz és a citoplazma riboszómák közötti további különbségek:

a) a kloroplasztisz riboszómák fehérjeszintetikus aktivitása jóval nagyobb,

b) TRIS pufferes dialízis során a 70s partikulumok csaknem teljesen disszociálnak, míg a 80s partikulumok nem,

c) a kloramfenikol lényegesen erősebben kötődik a kloroplasztisz riboszómákhoz, mint a citoplazma riboszómákhoz,

d) a 70s partikulumok maximális aminosav beépítése 15 mM Mg^{2+} -nál, míg a 80s riboszómák esetén a maximális beépülés 5 mM Mg^{2+} -nál jeletkezik.

A plasztisz riboszómák a sztrómában és a lamelláris struktúra felületén helyezkednek el (Rawson és Stutz 1968). Igen jellemzőek a gránulamellák felületén gyöngyfűzérszerűen elhelyezkedett poliszómák. (Filippovics és mti 1970).

A 70s plasztisz riboszómák az etiolált levelekből is izolálhatók. Fényen számuk csak kismértékben nő. A megvilágítás inkább a riboszómák aktivitását fokozza. Ezt támasztják alá azok a vizsgálatok is, melyek a megvilágítás hatására jelentkező poliriboszóma képződésre mutatnak (Clark és mti 1964).

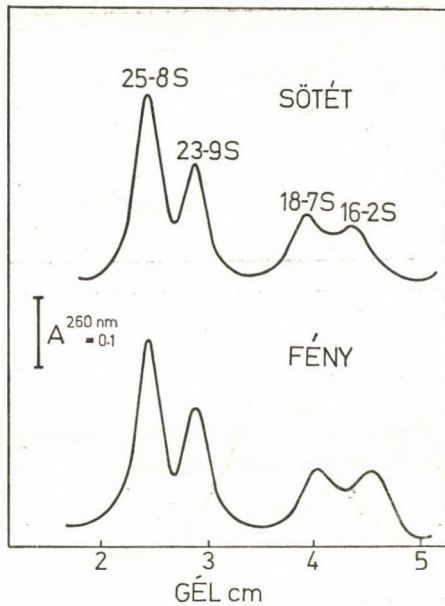
A kloroplasztisz RNS

A kloroplasztisz szárazsúlyának mintegy 0,1–7%-t RNS teszi ki (Smillie 1956), melynek legnagyobb része riboszómális eredetű (2. ábra).

Amint az 1. táblázatból látható a kloroplasztiszban 23s és 16s rRNS található, mint a baktériumoknál. A különbség csupán az, hogy a kloroplasztiszból izolált riboszómális RNS frakcióban több a 16s, mint a 23s típus (Spencer és Whitfeld 1966, Loening és Ingle 1967). Scott és Smillie (1969) kimutatta, hogy az *Euglena*-ból izolált 23s RNS könnyen degradálódik 19s és 14s komponensekre. Dyer és Leech (1968) bablevél kloroplasztiszokból 5s RNS komponenst is tudott izolálni.

RNS szintézise a kloroplasztiszban

Magasabbrendű növényekből és algákból izolált plasztiszokban DNS-től függő RNS szintézist többen kimutatták (Berger 1967, Bogorad 1968, Tewari és Wildman 1969). A ^{14}C -adenozin 5' trifoszfát RNS-be való beépülése a négy nukleotid-trifoszfát jelenlétében lehetséges. Deoxiribonukleázzal, ribonukleázzal vagy aktinomycin-D-vel előkezelt plasztiszokban a beépülés gátlődik.



2. ábra. Búzalevélből izolált és poliakrilamid gél-elektroforézissel szétválasztott riboszómális RNS frakció (Scott és Smillie 1969)

A kloroplasztisz RNS polimeráz aktivitása igen érzékeny a rifampicinnel szemben a mag polimeráz nem. Ez arra utal, hogy a kloroplasztisz saját, a magétól eltérő polimerázzal rendelkezik. A kloroplasztisz tartalmazza a nukleotidok szintéziséhez szükséges enzimeket is.

Több tényadat igazolja, hogy a plasztisz nukleinsav szintézis a zöldülés folyamán igen nagy jelentőséggel bír:

1. Euglena és Chlorella zöld sejtjei több RNS-t tartalmaznak, mint a sötétben nőtt vagy kifehértett sejtek (Smillie és Krotkov 1960).

2. Jelzett prekursorok RNS-be való beépülését a fény serkenti (Bogorad 1967) (3. ábra).

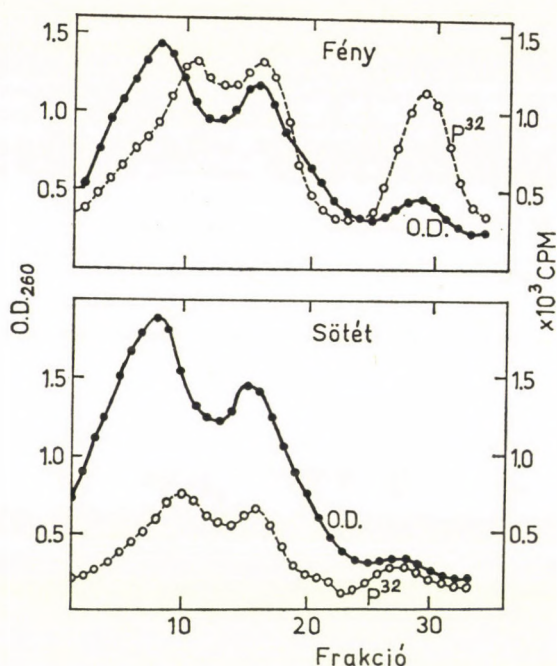
3. Az Euglena sejtek zöldülése során az RNS szintézis fokozódik és megelőzi a klorofill és a kloroplasztisz proteinek képződését (Brawerman és mti 1962).

4. Fény hatására egy új RNS szintézis indul be, amely a kloroplasztisz-poliriboszómák képződésével mutat szoros kapcsolatot (Brawerman és Chargaff 1954).

5. Az RNS szintézis specifikus gátlói a kloroplasztisz fejlődését is gátolják (Bogorad és Jakobson 1964, Aoki és mti 1965).

6. Etiolált levelek megvilágításakor nő a plasztisz RNS polimeráz mennyisége (Kirk 1964).

A vizsgálatokból kitűnik, hogy egy magasabbrendű növény kloroplasztiszának teljes differenciálódása folyamatában — amely kb. 45 óra alatt játszódik le fényen — a nukleinsavsintézis intenzív növekedése az első 15 órában jelentős.



3. ábra. Kukoricalevelekből izolált plasztiszok RNS frakcióinak 260 m μ -nál mért denzitása és ^{32}P aktivitása cukorgradienscentrifugálás után. (Bogorad 1968)

A kloroplasztisz proteinek szintézise

A kloroplasztisz tartalmazza a proteinszintézishez szükséges összes komponenseket:

1. a kloroplasztisz riboszómákat és riboszomális RNS-t tartalmaz, melyek jól elkülöníthetők a citoplazma hasonló komponenseitől (Boardman és mti 1966).

2. izolált kloroplasztiszokban eminósavaktiváló enzimeket sikerült kimutatni (Francki és mti 1965, Heber 1962)

3. Spencer és Wildman (1964), Sissakjan és mti (1965) tRNS-t izoláltak kloroplasztiszokból. Barnett és mti (1969) azt találták, hogy sötétben nőtt *Euglena gracilis* sejtekben fény hatására új típusú izoleucil-, glutamil- és fenilalanil tRNS képződik. Kifehértett mutánsokban ezek a tRNS-féleségek nem találhatók.

4. közvetett módszerrel sikerült kimutatni a messenger RNS jelenlétét a kloroplasztiszban. *Brassica pekinensis* levelekből izolált riboszóma frakcióban a monomereken kívül poliriboszómákat is kimutattak, melyeket mRNS fonalak tartanak össze. Ezek a poliriboszóma testek RNáz-zal megbonthatók (Stutz és Noll 1967).

A magasabbrendű növényekben és algákban kimutatták, hogy az izolált kloroplasztiszok az izotóppal jelzett aminosavakat triklórecetsavval kicsapható polipeptidekbe építik be (Margulies és mti 1968).

Problémát okoz, hogy az izolált plasztiszok csak rövid ideig funkció-

képesek elsősorban azért, mert az izoláció során lényeges komponensek kerülhetnek ki belőlük, a plasztizmembrán destrukciója következtében. Nem elhanyagolható a baktériumokkal történő fertőzés lehetősége sem.

Plasztisz-protein szintézis tanulmányozása specifikus gátlók felhasználásával

Vasquez (1966) kimutatta, hogy a kloramfenikol gátolja a proteinszintézist a prokarióta szervezetekben, a 70s riboszómához való kötődésén keresztül. A kloramfenikol úgyszintén gátolja az izolált plasztiszok proteinszintézisét is (Spencer 1965). Ezzel szemben a 80s típusú riboszóma a kloramfenikolra nem érzékeny. Ebből következik, hogy a plasztiszban a 70s riboszómán szintetizálódó proteinek azonosítása a kloramfenikol felhasználásával megvalósítható.

A másik specifikus gátló a cikloheximid a citoplazmatikus 80s riboszómához való kötődésén keresztül fejt ki gátló hatását (Siegel és Sisler 1965, Wettstein és mti 1964). A 70s riboszómára vagy az izolált kloroplasztiszokra nem hat (Stutz és Noll 1967, Ellis 1969).

2. táblázat
Kloramfenikol és cikloheximid hatása a proteinszintézisre

	Kloramfenikol	Cikloheximid
Baktériumok	+	—
Kékeszöld algák	+	—
Citoplazma:		
gombák	—	+
zöld algák és növények	—	+
emlősök	—	+
Mitokondrium	+	—
Kloroplasztisz	+	—

Smillie és mti (1963, 1967) a Calvin-ciklus több enziménél tanulmányozták a kloramfenikol gátló hatását az *Euglena* kloroplasztisz fejlődése során. A kloramfenikol nem gátolja az *Euglena* sejt osztódását, a légzőenzimek szintézisét és a tápanyagból történő cukorfelvételt. Ezzel szemben gátolja a klorofillszintézist, a ribulóz-1,5-difoszfátkarboxiláz, a NADP specifikus glicerinaldehid-3-foszfátdehidrogenáz enzimek, valamint a *Frakció I* protein képződését.

Hasonló gátló hatást figyeltek meg az említett enzimekre vonatkozóan a magasabbrendű növényekben is (Ziegler és Ziegler 1965, Margulies 1964). Ezekből az adatokból levonható az a következtetés, hogy a fenti enzimek és a *Frakció I* protein szintézise a kloroplasztiszban, a kloroplasztisz riboszómán történik és nincs szükségszerű kapcsolat a kloroplasztisz és a citoplazma fehérjeszintetizáló rendszere között.

A kloramfenikol gátolja az elektrontranszportban résztvevő enzimek, így pl. a citokrom-552-t, a citokrom-*b*-t, és a ferredoxin NADP redukáz szintézisét az *Euglena*-ban (Smillie 1963, Smillie és mti 1967).

A gátlók akciójának helyét és ezzel együtt szelektivitásukat nehezíti az az eset, amikor a kloroplasztisz fehérjék részben vagy egészben a citoplazmában képződnek és ezt követően kerülnek a kloroplasztiszba. Az esetek többségében ilyenkor a fehérjeszintézist a cikloheximid gátolja ugyan a citoplazmában, amely a kloroplasztiszban azonban zavartalanul folthatódhat.

In vivo plasztisz-proteinszintézis a zöldülés során

A fotoszintézis apparátusának kialakulása új enzim és struktúrfehérjék szintézisével jár (Smillie 1963). A kloroplasztisz szárazsúlyának 70%-a protein és a növényi sejt proteintartalmának 45—70%-a ebben az organelumban található (Zucker és Stinson 1962, Stocking és Ongun 1962).

De Deken-Grenson (1954) cikoria (*Cichorium intibus*) etiolált leveleit megvilágítva azt találta, hogy két nap alatt a plasztisz-protein mennyisége 210%-kal emelkedett, míg az egész levél proteintartalma csak 60%-kal gyarapodott. *Phaseolus vulgaris* etiolált leveleiben a plasztisz-proteinra eső nitrogéntartalom 180%-kal nőtt meg a zöldülés során (Mego és Jagendorf 1961). Bräwerman és Chargaff (1959) vizsgálatai szerint a fénynek kitett heterotróf *Euglena* sejtekben a plasztisz-protein tartalom 65%-kal nőtt, ugyanakkor a sejt proteintartalma nem változott. Ebből arra következtetnek, hogy a fényindukálta plasztisz-protein szintézisben más, citoplazma eredetű proteinek is részt vesznek. A szerzők további vizsgálatai ezt a hipotézist igazolták. Leucin- ^{14}C -vel kimutatták, hogy a megvilágítás hatására a plasztisz-protein intenzíven képződik, *turn-over*-e kicsi. A citoplazma-protein gyarapodása nem volt kimutatható, *turn-over*-e azonban jelentős volt. Ez arra is rámutat, hogy a citoplazma-proteinek lehidrolizálva a szabad aminosav „pool” növelésén keresztül lépnek be a plasztisz-protein szintézisbe.

Brachet és mti (1955) *Acetabularia*-val végzett vizsgálataikban kimutatták, hogy a kloroplasztisz proteinek ^{14}C jelződése 2—3-szor nagyobb, mint a citoplazma-proteineké. Nyilvánvaló, hogy a plasztisz proteinek magában a kloroplasztiszban képződnek. Hasonló vizsgálatokat végzett spenőtlevelekkel Heber (1962) is. Ha az etiolált leveleket néhány másodpercig $^{14}\text{CO}_2$ -t tartalmazó térben tartotta, a plasztisz-proteinek ^{14}C jelződése időben megelőzte a citoplazmaproteinek jelződését.

Havkin (1963) etiolált és zöld bablevelek glicin- ^{14}C felvételét tanulmányozta a kloroplasztisz és citoplazma fehérjékben. Azt találta, hogy a csíranövények zöldülése során a kloroplasztisz fehérjék specifikus aktivitása 170%-kal nőtt meg. A glicin- ^{14}C az újonnan szintetizált fehérjékbe épül.

Hellebust és Bidwell (1963) búzalevelek fotoszintézise során azt tanulmányozta, hogy milyen mértékben támaszkodik a proteinszintézis a raktár-aminósavakra, ill. a közvetlenül $^{14}\text{CO}_2$ -ból felépülő fotoszintézis termékekre. A protein szerin- és glicintartalmának több, mint a fele a frissen beépített CO_2 -ból származott, a glutaminsav és aszparaginsav „C” tartalmának zöme pedig a raktár-aminósavakból.

A fényen végbemenő fehérjeszintézis speciális aminosavigényét bizonyítják Sziszakjan és mti (1963) megfigyelései, akik etiolált és fényen tartott levelek kloroplasztiszaiából izolált fehérje elektroforetikus viselkedését hasonlítottuk össze. Kimutatták, hogy a fényen szintetizált fehérjékben nagyobb az effektív negatív töltés. Ez arra utal, hogy ezekben a fehérjékben több amino-dikarbonsav van jelen.

A plasztisz fejlődés fényregulációja

A növények nagy többségére jellemző, hogy a fény elengedhetetlen feltétele, szabályozója a kloroplasztisz fejlődésének. A növényekben az alábbi

jól definiált morfogenetikai receptor fordul elő: a protoklorofillid-holokrom és a fitokrom. Ezenkívül a citokromok, melyek szintén porfirinek, valamint a flavinok a kék fény receptorai is lényeges szereppel bírnak (Schmid 1971, Lee és mti 1971). Nem hagyhatók figyelmen kívül a karotinoidok fotoreceptor sajátságai sem.

A növényvilágban az említett receptorok elterjedése és szerepe eltérő. A zárvatermő növényekben a kloroplasztisz fejlődésében a fitokrom és a protoklorofillid-holokrom kitüntetett jelentőségű. A nyitvatermőkben a kloroplasztisz fejlődés sötétben is végbemegy, jöllehet mindkét említett fotoreceptor bennük megtalálható. Ez jellemző a virágtalan növényekre és a zöld algákra is. Kivételt képeznek az *Euglena* és egyes *Chlorella* törzsek, melyek csupán fényen képesek kizöldülni (Beale 1971, Taylor és Bonner 1967). Az *Euglena*-ra jellemző, hogy fitokromot nem tartalmaz, a kloroplasztisz fejlődés fotoregulációjában a protoklorofillid-holokrom a fotoreceptor.

Proteinszintézis fotoregulációja a kloroplasztiszban

a) Fotoreguláció az algákban

Az algák többségében a kloroplasztisz proteinek szintézise fényt nem igényel. Egyes algatípusokban viszont, pl. az *Euglena*-ban a fény serkenti a proteinszintézist. A folyamathoz folytonos fényvel történő megvilágítás szükséges és a fotoreceptor a protoklorofillid-holokrom (Holowinsky és Schiff 1970).

Az *Euglena*-ban a fény két mechanizmuson keresztül hat a kloroplasztisz proteinek szintézisére: 1. a protoklorofillid-klorofillid fényredukcióján keresztül direkt szabályozza a plasztisz proteinek szintézisét, esetleg az erős megvilágítás depressziót vált ki (Schiff és Epstein 1965); 2. a fény intenzitása és spektrális összetétele egyes metabolitok fokozott szintézisét eredményezheti, melyek „feed back” mechanizmuson keresztül szabályozhatják a plasztisz proteinek szintézisét.

b) Proteinszintézis fotoregulációja a magasabbrendű növények kloroplasztiszaiban

A magasabbrendű növények leveleinek proplasztiszaiban nagyszámú kloroplasztisz specifikus fehérje képződik sötétben, melynek mennyisége függ magától a növényi szervezettől, annak fejlődési állapotától és a tápanyagellátottságtól. Ilyen enzimek pl. a Calvin-ciklus enzimei, melyeknek szintézisét a fény nagymértékben fokozza.

Amint az a korábbiakból is kitűnik, a fényindukcióban két jól ismert fotoreceptor, a protoklorofillid-holokrom és a fitokrom játszik fontos szerepet a plasztisz proteinek szintézisében. Mivel a klorofill bioszintézisének szabályozásában a protoklorofillid-holokrom fotoreceptor nélkülözhetetlen szerepet játszik és a bioszintézisben számos kloroplasztisz specifikus enzim is közreműködik (Smillie 1963), feltételezték, hogy ezeknek az enzimeknek a szintézisében is a protoklorofillid-holokrom a fotoreceptor.

Korábban hasonló probléma merült fel, a ribulózdifoszfátkarboxiláz enzim szintézisével kapcsolatban is, mert 1. a zöldülés korai szakaszában a szintézis párhuzamosan halad a klorofillszintézissel (Huffaker és mti 1966);

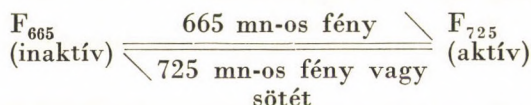
2. fehérjeszerkezetben a protoklorofillid-holokrom nagy hasonlóságot mutat a ribulóz-1,5-difoszfát-karboxilázzal (Falk és Bogorad 1969).

Kirk és Tilney-Bassett (1967) szerint a klorofillszintézis lag fázisában végbemenő enzimszintézis fotoregulációjában a fitokrom játszik fontosabb szerepet. A kérdés tisztázását az elővilágítás hatásának a tanulmányozása segíti.

Mint ahogy az már régen ismers az etiolált levelek megvilágítása során a protoklorofillid-klorofillid átalakulás gyorsan végbemegy, majd ezt követően egy hosszabb-rövidebb lag periódus következik. A lag fázis hosszúsága függ a növény korától, a tápanyagellátottságtól, a megvilágítástól, a növekedési anyagoktól és más kémiai anyagoktól.

Ha az etiolált leveleket rövid ideig vörös fénnel (kb. 660 nm) megvilágítanak és 5–15 óráig a tartós megvilágítás előtt sötétben tartanak, a klorofillszintézis lag fázisa teljesen eltűnik (Virgin 1958). A klorofillszintézis lag fázisa, valamint a cikloheximid és kloramfenikol zöldülést gátló hatása a megvilágítás előtt alkalmazott δ -aminolevulinsav (a porfirin előanyaga) adagolással megszüntethető (Nadler és Granide 1970). A δ -aminolevulinsav (ALA) adagolás a vörös fénnel történő megvilágítással közel azonos mértékű klorofillszintézis fokozódást idéz elő (Sisler és Klein 1963). Mindezek a megállapítások azt igazolják, hogy a klorofillszintézis lag fázisában a fitokrom indukált enzimszintézisek játszódnak le, valamint az is, hogy a vörös fény serkenti az ALA szintetáz képződését.

Mit is tudunk a fitokromok in vivo szerepéről? A csíranövények össz proteintartalmának 0,1%-a fitokrom. A fitokrom egy protein-pigment, minden valószínűség szerint a festékanyag fikocianinhoz hasonló nyitott láncú tetrapirrol. A protein molekulásúlya 60 000. In vivo növényi membránokhoz kötött. Két formában létezik: egy fiziológiailag aktív formában, melynek abszorpciós maximuma 725 nm (F_{725}) és egy inaktív formában, melynek abszorpciós maximuma 665 nm (F_{665}). Mindkét forma átmehet egymásba:



Fotostacioner állapotban az F_{665} formának csupán 81%-a alakul át F_{725} formává, ha a megvilágítás 665 nm-os fénnel történik (Butler és mti 1964). — Amennyiben a rendszert 725 nm hullámhosszú fény éri, az aktív F_{725} -ös forma 99%-a átalakul F_{665} -ös formává. A fotoátalakulás molekuláris sajátosságai nem ismeretesek, de feltehetően a proteinmolekula konformációjában bekövetkező változásról van szó.

Amint az már az előbbiekből is kitűnik, a fitokrom fokozza a δ -aminolevulinsav szintézisét a δ -aminolevulinsavsintetáz képződésén keresztül. A CO_2 fixációban résztvevő enzimek szintézisét is a fitokrom kontrollálja (3. táblázat).

A Calvin-ciklus enzimek közül a NADP-glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz aktivitása rövid ideig tartó vörös fénnel történő megvilágításra 2–3-szor növekszik meg (Marcus 1960). Feierabend és Pirson (1966) adatai szerint a ribulóz-1,5-difoszfát karboxiláz aktivitása 2,2-szer magasabb, ha az etiolált leveleket rövid ideig vörös fénnel (661 nm) megvilágítanak. Kisebb mértékű aktivitásnövekedést mutat a transzketoláz és a ribóz-5-foszfát enzim

3. táblázat
Fitokrom által szabályozott kloroplasztisz enzimek

Enzimek	Növény			
	borsó	bab	rizs	kukorica
Frakció I protein	+			
RuDP-karboxiláz	+			+
NADP ⁺ Ga-3-P dehidrogenáz	+	+		
Alkalikus FDPáz	+			
Transzketoláz			+	
Ribulóz-5-P izomeráz	+		+	
Transzhydrogenáz	+			
Aminosavacil-sRNS szintetáz	+			
Protoklorofil szintetizáló enzim		+		
PEP-karboxiláz				+
Piruvát-Pi-dikináz				+

is. A vörös fényt követő távoli vörös fénnel (far red) történő megvilágításkor az enzimaktivitások a sötét kontroll értékeit mutatják.

A fitokrom reguláció szerepe különösen olyan növényekben mutatható ki, ahol a kloroplasztisz fejlődése (strukturális és funkcionális eleminek kialakulása) sötétben csak igen kismértékű. Ilyen pl. a borsó is, mellyel kapcsolatban Graham és mti (1968) végeztek ilyen jellegű vizsgálatokat (4. táblázat).

A táblázatból látható, hogy a vörös fénnel (661) történő megvilágításkor a Calvin-ciklus enzimei, a ribulóz-1,5-difoszfátkarboxiláz, a NADP-glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz, valamint az alkalikus fruktóz-1,6-difoszfátáz nagymértékű gyarapodása figyelhető meg a kontroll értékekhez, mint egységhez képest. Lényegesen kisebb, de nem elhanyagolható mértékű növekedést mutat a friss súly, az oldható protein, valamint egyes légzési enzim. A távoli vörös fénnel (733 nm) történő megvilágítás az említett komponensek kismértékű változását idézi elő.

Az adatokból az alábbi következtetések vonhatók le:

1. a kloroplasztiszban a Calvin-ciklus enzimeinek szintézisében az elsődleges fotoregulátor a fitokrom;

4. táblázat

Plasztisz-proteinek változása vörös és távolivörös fénnel megvilágított borsó szártenyészőcsúcsban. A növények 7 napos korukig sötétben nőttek, majd ezt követően 5 napon át rövid ideig vörös (661 nm), távoli vörös (733 nm), ill. vörös, majd távoli vörös fénnel világítottak meg.

	Sötét	661 nm	661 + 733 nm	733 nm
Friss súly	1,0	5,1	2,5	1,6
Oldható protein	1,0	5,3	2,7	1,7
Enoláz	1,0	3,3	1,9	1,4
NADP-izocitrát dehidrogenáz	1,0	2,9	1,5	1,3
Malátdehidrogenáz	1,0	3,6	1,9	1,3
RuDP-karboxiláz	1,0	91,0	36,0	17,0
NADP-glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz	1,0	35,0	18,0	6,0
Alkalikus fruktóz-1,6-difoszfátáz	1,0	15,0	3,1	1,9
Frakció I protein	1,0	11,0	5,1	3,3

2. a fitokrom irányította változások mértéke megközelíti a folytonos megvilágítás hatására fellépő változásokat;

3. vörös fény hatására elsősorban a plasztisz-protein szintézis nagymértékű fokozódása jellemző.

A fitokrom, mint fotoregulátor hat a C_4 -dikarboxilsav ciklus enzimeinek képződésére is. A ciklus két kulcsenzime, a foszfoenol-piroszőlő-savkarboxiláz és a piroszőlősav-Pi-dikináz, 7 ill. 12-szeresére nő meg, ha a sötétben nőtt kukorica csíranövényeket rövid ideig 661 nm-os fénnel megvilágítanak (Graham és mti 1968).

Ami a fotoszintézis elektrontranszport fehérjéit illeti, képződésüket a rövid ideig alkalmazott vörös fény alig fokozza. Ezek a fehérjék erősen a lamelláris struktúrához kötődnek a kifejlett kloroplasztiszban. A fitokrom a szolubilis plasztisz-proteinek szintézisét fokozza és nem hat a lamellák képződésére (Klein és mti 1964, Mego és Jagendorf 1961). Klister és mti (1962) kimutatták, hogy míg a rövid ideig alkalmazott vörös fény csak 50%-kal növelte a ferredoxin NADP-reduktáz aktivitását az etiolált bablevelekben, addig a folytonos megvilágításnál 2,5–8-szorosára növekedett az aktivitás. Ezek az adatok azt mutatják, hogy az említett enzimszintézisben más fotoreceptor működik közre. A fitokrom feltehetően a ferredoxin NADP-reduktáz szolubilis formájának képződését fokozza.

A kloroplasztisz RNS fotoregulációja

A plasztisz RNS tárgyalásánál kitűnt, hogy szintézisét a fény serkenti. Kérdés, hogy ebben a fényindukcióban a fitokrom vagy a protoklorofillid-holokrom-e az elsődleges fotoreceptor. Az elemzést nehezíti az a tény, hogy a zöldülés során a plasztisz RNS-tartalom csak kismértékben változik (Feierabend és Pirson 1966). Rhodes és Yemm (1966) bablevelekkel, Brady és mti (1971) búzával végzett vizsgálataiból kitűnik, hogy az egy levélre számított RNS tartalom a kezdeti kismértékű növekedés után csökken. Boardman (1966) kimutatta, hogy a fény nem növeli a plasztisz riboszóma tartalmát. Bogorad és Jacobson (1964) aktinomycin D-vel végzett vizsgálataiból kitűnik, hogy az etiolált plasztiszok nagyszámú riboszómát tartalmaznak és a fény a messenger RNS képződését fokozza. Etiolált kukorica leveleket 30 percig megvilágítva 90 perces sötét periódus után a plasztiszok RNS polimeráz aktivitása 6,5-szeresére nő meg (Bogorad 1967).

Ezek az adatok azonban nem bizonyítják a fitokrom közvetlen szerepét a plasztisz RNS szintézisében. Erre csupán a proteinszintézisben játszott fotoregulátor szerepe enged következtetni. Weidner és mti (1965) azonban kimutatták, hogy a *Sinapsis alba*-t vörös fénnel megvilágítva, az RNS és proteinszintézis nagymértékben fokozódik és ez a fényserkentés távoli vörös fénnel teljesen megszűnik. A kék fény a vörös fénnél jóval kisebb hatású, a zöld fény csaknem hatástalan.

Hogyan is fejti ki hatását a fitokrom az $F_{665} \rightarrow F_{725}$ fotoátalakulás során? A magasabbrendű növények sötétben nőtt sejtjeiben a fitokrom 99%-a F_{665} formában található. Vörös fény hatására a fenti átalakulás megy végbe, valamint a protoklorofillid klorofilliddé alakul. Hendricks és Borthwick (1967) feltételezi, hogy a membránhoz kötött fitokrom fotoátalakulása változást idéz

elő a membrán permeabilitásában. A fitokromnak hormonokkal történő kapcsolódása módosíthatja azok akcióját (Goran és Galiton 1967, Lockhart 1964).

Amennyiben feltételezzük, hogy a kloroplasztisz proteinek és más komponensek szintézisének regulációja a Jacob és Monod (1961) által kidolgozott baktérium proteinszintézis regulációjához hasonló, a kloroplasztisz képződése az alábbi módon értelmezhető:

A kloroplasztisz proteinek zöme (esetleg mind) fényen jóval nagyobb mértékben képződik, mint sötétben. Minden proteinféleséghez két gén tartozik: struktúrgén és regulátorgén. Meg kell jegyezni, hogy nagyszámú, különböző proteint egy egyszerű regulátorgén kontrollálhat, de minden egyes proteint saját struktúrgénnel rendelkezik. A sötétben nőtt sejtekben a regulátorgének által termelt represszorok kapcsolódnak a megfelelő struktúrgének operátor régióihoz. Ennek következtében a struktúrgének részlegesen vagy teljesen kikapcsolódnak. Itt meg kell jegyezni, hogy a plasztisz proteinek szintézisének a struktúrgének kikapcsolása csak részleges, hiszen a kloroplasztisz enzimek (mint pl. a ribulóz-1,5-difoszfát-karboxiláz) kismértékben sötétben is képződnek. Hogyan kapcsolódik a fitokrom ebbe a regulációs rendszerbe? A fitokrom 725-ös formája vagy az irányítása alatt szintetizálódó valamilyen anyag kapcsolódik a represszorokhoz, és ezáltal nincs lehetőség a struktúrgének kikapcsolására. A funkcióképes struktúrgének akciójaként messenger RNS, kloroplasztisz riboszómális RNS és transzfer RNS és végül kloroplasztisz proteinek képződnek. Ez a folyamat azonban fokozatos: először az F_{725} fitokrom forma vagy annak metabolitja derepresszál, vagy indukál egy vagy néhány struktúrgént. Az aktív struktúrgének akciója által képződő enzimek olyan metabolitokat termelhetnek, melyek más géneket derepresszálnak és így tovább. A plasztiszok nem fehérje komponensei, mint pl. a pigmentek és speciális lipidek képződése, a szintézisüket biztosító enzimek képződésekor azonnal megindul.

Az a tény, hogy az $F_{725} \rightarrow F_{665}$ átalakulás sötétben csak lassan megy végbe, megvan a lehetősége annak, hogy a bioszintézisek sötétben normálisan menjenek tovább. A rövid idejű megvilágítás alatt nagyszámú messenger RNS molekula és kloroplasztisz riboszóma képződik, és mivel a messenger RNS elég stabilis, biztosítani tudja hosszabb sötét periódus alatt — a fitokrom 725-ös forma teljes átalakulása után is — a proteinszintézist. Távoli vörös fény hatására a bioszintézisek gyorsan leállnak.

A struktúrgének derepressziója következtében különösen a plasztisz korai fejlődésekor, különböző típusú RNS féleségek képződnek, így pl. riboszómális RNS és messenger RNS (Williams 1965).

A fitokrom szerepével kapcsolatban azonban több kérdés is felmerül:

1. vajon a fitokrom génaktiválása csak a plasztisz saját génjeire vagy a kloroplasztisz fejlődés-regulációjában résztvevő nukleáris génekre is vonatkozik?

2. Milyen regulációs mechanizmus létezik olyan esetekben, ahol fitokrom nem mutatható ki (pl. egyes algáknál)?

3. Milyen regulációs mechanizmus biztosítja a bioszintéziseket olyan esetben, ahol a kloroplasztisz fejlődés fényt nem igényel?

Összefoglalás

A kloroplasztisz tartalmazza a proteinszintézis összes komponensét:

1. a kloroplasztisz riboszómákat és riboszómális RNS-t tartalmaz, melyek jól elkülöníthetők a citoplazma hasonló komponenseitől
2. izolált kloroplasztiszokban aminosavaktiváló enzimeket sikerült kimutatni
3. a kloroplasztiszból új típusú tRNS-ek izolálhatók, amelyek kifehéritett mutánsokban nem találhatók
4. közvetett módszerrel sikerült kimutatni a messenger RNS jelenlétét a kloroplasztiszban.

Specifikus gátlókkal végzett vizsgálatok kimutatták, hogy nincs szükségszerű kapcsolat a kloroplasztisz és a citoplazma fehérjeszintetizáló rendszere között.

Magasabbrendű növényekben a kloroplasztisz fejlődéséhez a fény elengedhetetlenül szükséges. Fény hatására a kloroplasztiszban új nukleinsavak és fehérjék szintetizálódnak:

1. Euglena és Chlorella zöld sejtjei több RNS-t tartalmaznak, mint a sötétben nőtt vagy kifehéritett sejtek
2. jelzett prekursorok RNS-be való beépülését a fény serkenti
3. az Euglena sejtek zöldülése során az RNS szintézis fokozódik és megelőzi a klorofill és a kloroplasztisz proteinek képződését
4. fény hatására egy új m-RNS szintézis indul be, amely a kloroplasztisz poliriboszómák képződésével mutat szoros kapcsolatot.
5. etiolált levelek megvilágításakor nő a plasztisz RNS polimeráz mennyisége
6. a fény nagymértékben serkenti a növényi sejt proteintartalmának 45–70%-át kitevő plasztiszprotein szintézist. Irodalmi adatok szerint a fényserkentés 60–200%-os.

A plasztisz nukleinsav és fehérje szintézisének fényserkentésében első sorban két fotoreceptor a fitokromhoz és a protoklorofill-holokrom vesz részt.

Még keveset tudunk a fenti fotoreceptorokon keresztül megvalósuló fényregulációról, amely első sorban a fény hatására bekövetkező etioplasztisz → kloroplasztisz átalakuláskor döntő jelentőségű.

IRODALOM

1. AOKI, S., MATSUBARA, J. K., HASE, E. (1965) De and re-generation of chloroplasts regeneration in the „glucose-bleached” cells of *Chlorella protothecoides*. IV. Effects of 5-fluorouracil, dihydrostreptomycin chloramphenicol and acridine orange on the processes of greening and division of ”glucose-bleached” algal cells. *Plant Cell Physiol.*, **6**, 473–484.
2. BARNETT, W. E., PENNINGTON, C. J., JR., FAIRFIELDS, S. A. (1969) Induction of Euglena transfer RNAs by light. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **63**, 1261–1268.
3. BEALE, S. I. (1971) Studies on the biosynthesis and metabolism of δ -aminolevulinic acid in *Chlorella*. *Plant Physiol.*, **48**, 316–319.
4. BERGER, S. (1967) RNA synthesis in *Acetabularia*. II. RNA synthesis in isolated chloroplasts. *Protoplasma*, **64**, 13–25.
5. BOARDMAN, N. K. (1966) Ribosome composition and chloroplast development in *Phaseolus vulgaris*. *Expt. Cell Res.*, **43**, 474–482.
6. BOARDMAN, N. K., FRANCKI, R. I. B., WILDMAN, S. G. (1966) Protein synthesis by cell-

- free extracts of tobacco leaves. III. Comparison of the physical properties and protein synthesizing activities of 70s chloroplast and 80s cytoplasmic ribosomes. *J. Mol. Biol.*, **17**, 470—489.
7. BOGORAD, L., JACOBSON, A. B. (1964) Inhibition of greening of etiolated leaves by actinomycin D. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **14**, 113—117.
 8. BOGORAD, L. (1968) Control mechanisms in developmental processes. *Developmental Biology Suppl.*, **1**, 1—31.
 9. BRACHET, J., CHANTRENNE, H., VAN DER HALGE (1955) Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyan et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. *Biochim. Biophys. Acta*, **18**, 544—563.
 10. BRADY, C. J., PATTERSON, B. D., HENG PONG TUNG, SMILLIE, M. R. (1971) Protein and RNA synthesis during ageing of chloroplasts in wheat leaves. In: *Autonomy and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplast*. (eds.: N. K. BOARDMAN, W. A., LINNANE, M. R. SMILLIE) pp. 453—465. North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
 11. BRAWERMAN, G., CHARGAFF, E. (1959) Changes in protein and ribonucleic acid during the formation of chloroplasts in *Euglena gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta*, **31**, 164—171.
 12. BRAWERMAN, G., EISENSTADT, J. M. (1964) Deoxyribonucleic acid from the chloroplasts *Euglena gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta*, **91**, 477—485.
 13. BRAWERMAN, G., POGO, A. O., CHARGAFF, E. (1962) Induced formation of ribonucleic acids and plastid protein in *Euglena gracilis* under the influence of light. *Biochim. Biophys. Acta*, **72**, 317—331.
 14. BUTLER, W. L., HENDRICKS, S. B., SIEGELMAN, A. W. (1964) Action spectra of phytochrome in vitro. *Photochem. Photobiol.*, **3**, 521—528.
 15. CLARK, M. F., MATTHEWS, R. E. F., RALPH, R. K. (1964) Ribosomes and polyribosomes in *Brassica pekinensis*. *Biochim. Biophys. Acta*, **91**, 289—304.
 16. DASSION, C., AKOYOUNGLOU, G. (1969) Effect of green and white flashed on the activity of the enzyme ribulosediphosphate carboxylase in dark-grown barley plants. *Physiol. Plant.*, **22**, 570—574.
 17. DE DEKEN-GRENSON, M. (1954) Grana formation and synthesis of chloroplastic proteins induced by light in portions of etiolated leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, **14**, 203—211.
 18. DYER, T. A., LEECH, R. M. (1968) Chloroplast and cytoplasmic low-molecular-weight ribonucleic acid components of the leaf of *Vicia faba* L. *Biochem. J.*, **106**, 689—698.
 19. ELLIS, R. J. (1969) Chloroplasts ribosomes: stereospecificity of inhibition by chloramphenicol. *Science*, **163**, 477—478.
 20. FALK, R. H., BOGORAD, L. (1969) Immunological distinction between Fraction I. protein and protochlorophyllide holochrome. *Plant Physiol.*, **44**, 1669—1671.
 21. FEIERABEND, J., PIRSON, A. (1966) Die Wirkung des Lichtes auf die Bildung von Photosynthese-Enzymen in Roggenkeimlingen. *Z. Pflanzenphysiol.*, **55**, 235—245.
 22. FILIPPOVICS, I. I., TONGUR, A. M., ALINA, B. A., OPARIN, A. I. (1970) Sztrukturalna organizacija belokszintezirusesej szisztemu hloroplasztov. *Biohimija*, **35**, 247—256.
 23. FRANCKI, R. I. B., BOARDMAN, N. K., WILDMAN, S. G. (1965) Protein synthesis by cell-free extracts from tobacco leaves. I. Amino acid incorporating activity of chloroplasts in relation to their structure. *Bochemistry*, **4**, 865—872.
 24. GASSMAN, M., BOGORAD, L. (1967) Control of chlorophyll production in rapidly greening bean leaves. *Plant Physiol.*, **42**, 774—780.
 25. GIBBS, S. P. (1967) Synthesis of chloroplast RNA at the site of chloroplast DNA. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **28**, 653—657.
 26. GOREN, R., GALSTON, W. (1967) Phytochrome controlled ¹⁴C-sucrose uptake into etiolated pea buds: Effects of gibberellic acid and other substance. *Plant Physiol.*, **42**, 1087—1090.
 27. GRAHAM, D., GRIERE, A. M., SMILLIE, R. M. (1968) Phytochrome as the primary photoregulator in the synthesis of Calvin-cycle enzymes in etiolated pea seedlings. *Nature*, **218**, 89—90.
 28. GRAHAM, D., HATCH, M. D., SLACK, C. R., SMILLIE, R. M. (1968) Phytochrome as a primary photoregulator in the synthesis of enzymes of photosynthetic carbon dioxide fixation in higher plants. *Proceedings of International Congress of Photobiology*. Hannover, New Hampshire.
 29. GREEN, B. R., BURTON, H., HEILPORN, V., LOMBOSCH, S. (1970) The cytoplasmic DNAs of *Acetabularia mediterranea*: their structure, and biological properties. In: *The Biology of Acetabularia*. (eds.: J. BRACHET, S. BONNOTTO) pp. 35. Acad. Press, London.
 30. HALL, T. C., COCKING, E. G. (1966) Studies on protein synthesis in tomato cotyledons and leaves. II. Intermediate stages of protein synthesis. *Plant Physiol.*, **7**, 346—356.

31. HAVKIN, E. E. (1963) Izucsenie szintezu belka v kloroplasztah lisztev faszoli. *Dokl. moszkv. sz-h akad. im K. A. Timirjazeva*, **94**, 295—300.
32. HEBER, U. (1962) Protein synthesis in chloroplasts during photosynthesis. *Nature*, **195**, 91—92.
33. HELLEBUST, J. A., BIDWELL, R. G. S. (1963) Sources of carbon for the synthesis of protein amino acids in attached photosynthesizing wheat leaves. *Canad. J. Bot.*, **41**, 985—994.
34. HENDRICKS, S. B., BORTHWICK, H. A. (1967) The function of phytochrome in regulation of plant growth. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **58**, 2125—2130.
35. HOLOWINSKY, A. W., SCHIFF, J. A. (1970) Events surrounding the early development of *Euglena* chloroplasts. *Plant Physiol.*, **45**, 339—347.
36. HUFFAKER, R. C., OBENDORF, R. L., KELLER, C. J., KLEINKOPF, G. E. (1966) Effects of light intensity on photosynthetic carboxylative phase enzymes and chlorophyll synthesis in greening leaves of *Hordeum vulgare* L. *Plant Physiol.*, **41**, 913—918.
37. JACOB, F., MONOD, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.*, **3**, 318—356.
38. KEISTER, D. L., JAGENDORF, A. T., SAN PIETRO, A. (1962) Development of bean-leaf transhydrogenase in etiolated leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, **62**, 332—337.
39. KIRK, J. T. O. (1964) DNA-dependent RNA synthesis in chloroplast preparations. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **14**, 393—397.
40. KIRK, J. T. O., TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1967) The Plastids: their Chemistry, Structure, Growth and Inheritance. Freeman and Co. London.
41. KLEIN, S., BRYAN, G., BOGORAD, L. (1964) Early stages in the development of plastid fine structure in red and far-red light. *J. Cell. Biol.*, **22**, 433—442.
42. LEE, D., SARGENT, D. F., TAYLOR, C. P. S. (1971) Blue light stimulated oxygen uptake mediated by FMN in a colorless *Chlorella* mutant. *Can. J. Bot.*, **49**, 651—655.
43. LOCKHART, J. A. (1964) Physiological studies on light sensitive stem growth. *Planta*, **62**, 97.
44. LOENING, U. E., INGLE, J. (1967) Diversity of RNA components in green plant tissue. *Nature*, **215**, 363—367.
45. LYTTLETON, J. W. (1962) Isolation of ribosomes from spinach chloroplasts. *Exp. Cell Res.*, **26**, 312—317.
46. LYTTLETON, J. W. (1968) Protein constituents of plant ribosomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **154**, 145—149.
47. MARCUS, A. (1960) Photocontrol of formation of red kidney bean leaf triphosphopyridine nucleotide linked triosephosphate dehydrogenase. *Plant Physiol.*, **35**, 126—128.
48. MARGULIES, M. M. (1964) Effect of chlormphenicol on lightdependent synthesis of proteins and enzymes of leaves and chloroplasts of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.*, **39**, 579—585.
49. MARGULIES, M. M. (1970) In vitro protein synthesis by plastids of *Phaseolus vulgaris*. V. Incorporation of ¹⁴C leucine into a protein fraction containing ribulose-1,5-diphosphate carboxylase. *Plant Physiol.*, **46**, 136—141.
50. MARGULIES, M. M., GANTT, E., PARENTI, F. (1968) In vitro protein synthesis by plastids of *Phaseolus vulgaris*. II. The possible relation between RNase intensive amino-acid incorporation and the presence of intact chloroplasts. *Plant Physiol.*, **43**, 495—503.
51. MEGO, J. L., JAGENDORF, A. (1961) Effect of light on growth of Black Valentine bean plastids. *Biochim. Biophys. Acta*, **53**, 237—254.
52. NADLER, K., GRANICK, S. (1970) Controls on chlorophyll synthesis in barley. *Plant Physiol.*, **46**, 240—246.
53. ODINTSOVA, M. S., YURINA, N. P. (1969) Proteins of chloroplast and cytoplasmic ribosomes. *J. Mol. Biol.*, **40**, 503—506.
54. RAWSON, J. R., STUTZ, E. (1968) Characterization of *Euglena* cytoplasmic ribosomes and ribosomal RNA by zóée velocity sedimentation in sucrose gradients. *J. Mol. Biol.*, **33**, 309—314.
55. RHODES, M. J. C., YEMM, E. W. (1966) The development of chloroplasts and photosynthetic activities in young barley leaves. *New. Phytol.*, **65**, 331—341.
56. SCHIFF, J. A., EPSTEIN, H. T. (1965) The continuity of chloroplasts in *Euglena*; Reproduction: Molecular, Subcellular and Cellular. (ed.: M. LOCKE) pp. 131—189. Acad. Press, New York.
57. SCHIMD, G. H. (1971) Photoregulation of β -D-glucose oxidase by blue light. *Phytochemistry*, **10**, 2041—2042.
58. SCOTT, N. S., SMILLIE, R. M. (1969) Ribosomal RNA in chloroplasts of *Euglena gracilis*. *Currents Mod. Biol.*, **2**, 339—342.

59. SIEGEL, M. R., SISLER, H. D. (1965) Site of action of cycloheximide in cells of *Saccharomyces pastorianus*. III. Further studies on the mechanism of action and the mechanism of resistance in *Saccharomyces* species. *Biochim. Biophys. Acta*, **103**, 558.
60. SISLER, E. C., KLEIN, W. H. (1963) The effect of age and various chemical on the lag phase of chlorophyll synthesis in darkgrown bean seedlings. *Physiol. Plant.*, **16**, 315—322.
61. SZISZAKJAN, N. I., BEZINGER, E. N., MOLCSATOW, M. I. (1963) Dejsztvűe puromicina na vklucsenie aminokislot v lipidu i belki hloroplasztov. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **151**, 449—451.
62. SISSAKIAN, N. M., FILIPPOVITCH, I. I., SVETAILLO, E. N., ALEVY, K. A. (1965) On the protein-synthesizing system of chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **95**, 474—485.
63. SMILLIE, R. M. (1956) Enzymic activities of a sub-cellular particles. II. Centrifugal fractionation and characterization of particles in homogenates of etiolated pea leaves. *Austr. J. Biol. Sci.*, **9**, 339—346.
64. SMILLIE, R. M. (1963) Formation and function of soluble proteins in chloroplasts. *Canad. J. Bot.*, **41**, 123—154.
65. SMILLIE, R. M., GRAHAM, D., DWYER, M. R., GRIEVE, A., TOBIN, N. F. (1967) Evidence for the synthesis in vivo of proteins of the Calvin-cycle and of the photosynthetic electron transfer pathway on chloroplast ribosomes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **28**, 604—610.
66. SMILLIE, R. M., KROTKOV, G. (1960) Phosphorus-containing compounds in *Euglena gracilis* grown under different conditions. *Arch. Biochem.*, **89**, 83.
67. SMILLIE, R. M., SCOTT, N. S., GRAHAM, D. (1968) Biogenesis of chloroplasts: Roles of chloroplast DNA and chloroplast ribosomes. In: *Comparative Biochemistry and Biophysics of Photosynthesis*. (eds.: K. SHIBATA, A. TAKAMIYA, A. JAGENDORF, R. C. FULLER) pp. 332—359. University of Tokyo Press, Tokyo.
68. SPENCER, D. (1965) Protein synthesis by isolated spinach chloroplasts. *Arch. Biochem.*, **111**, 381—390.
69. SPENCER, D., WHITFIELD, P. R. (1966) The nature of the ribonucleic acid of isolated chloroplasts. *Arch. Biochem.*, **117**, 3357—346.
70. SPENCER, D., WILDMAN, S. G. (1964) The incorporation of amino acids. into protein by cell-free extracts from tobacco leaves. *Biochemistry*, **3**, 954—966.
71. STOCKING, R. C., ONGUN, A. (1962) The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. *Am. J. Bot.*, **49**, 284—289.
72. STUTZ, E., NOLL, H. (1967) Characterization of cytoplasmic and chloroplast polysomes in plants: Evidence for 3 classes of ribosomal RNA in nature. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **57**, 774—781.
73. TAYLOR, A. O., BONNER, B. A. (1967) Isolation of phytochrome from the alga *Mesotaenium* and liverwort *Spaerocarpos*. *Plant Physiol.*, **42**, 762—766.
74. TEWARI, K. K., WILDMAN, S. G. (1969) Function of chloroplast DNA. II. Studies on DNA-dependent RNA polymerase activity of tobacco chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **186**, 358—372.
75. VASQUEZ, D. (1966) Mode of action of chloramphenicol and related antibiotics. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, **16**, 169—171.
76. WEIDNER, M., JAKOBS, M., MOHR, H. (1965) Über den Einfluss des Phytochroms auf den Gehalt an Ribonucleinsäure und Protein in Senfkeimlingen (*Sinapis alba* L.). *Z. Naturforsch.*, **20b**, 689—693.
77. WETTSTEIN, F. O., NOLL, H., PENMAN, S. (1964) Effect of cycloheximide on ribosomal aggregates engaged in protein synthesis in vitro. *Biochim. Biophys. Acta*, **87**, 525—528.
78. VIRGIN, H. I. (1958) Studies on the formation of protochlorophyll and chlorophyll *a* under varying light treatments. *Physiol. Plant.*, **11**, 347—362.
79. WILLIAMS, G. R. (1965) Some effects of light on nucleic acid synthesis in etiolated plant leaves. *Plant Physiol.*, **40**, 1.
80. ZIEGLER, H., ZIEGLER, I. (1965) Der Einfluss der Belichtung auf die NADP⁺ abhängige Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase. *Planta*, **65**, 369—380.
81. ZUCKER, H., STINSON, H. T. (1962) Chloroplasts as the major protein-bearing structures in *Oenothera* leaves. *Arch. Biochem. Biophys.*, **96**, 637—644.

KÖNYVISMERTETÉSEK

Sestak, Z., Catsky, J. és Jarvis, P. G.; *Plant Photosynthetic Production — Manual of Methods*. 1971. W. Junk N. V. Publishers, The Hague, 818 + XXI o. 244 ábra.

A könyv részletesen ismerteti a fotoszintetikus produkció élettani és ökológiai vizsgálata során alkalmazott fontosabb módszereket és e módszerek irodalmát. A 19 fejezet közül 9 (2—9., 18.) élettani, 4 fejezet (10—13.) ökológiai vonatkozású, 6 fejezet (1., 14—17., 19) a fotoszintézis vizsgálatokban használatos vonatkozási rendszereket, fizikai alapfogalmakat és mérőberendezéseket tárgyalja.

Az 1. fejezet a módszerek kiválasztásának szempontjait vázolja. Táblázatot tartalmaz a fotoszintetikus produkció irodalmában előforduló egységekre és ezek jelölésére ajánlott szimbólumokra, ami előmozdítja az eredmények értelmezésének egységesítését. Érdekes kísérlet a fotoszintézis intenzitását korlátozó tényezők táblázatos áttekintése, de véleményünk szerint a kölcsönös összefüggéseket és az egyes tényezők belső bonyolultságát kissé leegyszerűsíti. A 2. fejezet a gazometriás módszerekről ad részletes áttekintést — a legegyszerűbektől a legbonyolultabbakig. A 3. fejezet az infravörös gázanalízis elméleti és műszeres problémáit tárgyalja, kiemelve a mérések gyakorlati kivitelezésekor felmerülő nehézségeket és a korrekciós eljárásokat. A 4. fejezet a CO_2 koncentráció meghatározásának egyéb, műszeresen egyszerűbb módjait ismerteti. Az 5. fejezet a manometriás módszereket mutatja be. A 6. fejezet a mikrorespirométer szerkezetét és fotoszintézis mérésére való alkalmazását ismerteti. Ezt a módszert szerzője dolgozta ki, és ilyen részletes ismertetése a szakirodalomban sehol sem található. Kevésbé komplett a 7. fejezet, mely a $^{14}\text{CO}_2$ fotoszintézis mérésekben való alkalmazását tárgyalja. Valószínű, hogy célszerűbbnek tartották, hogy a kérdés nagy szakirodalmát ismertessék. Tematikailag is szűkreszabott a 8. fejezet, mely a fénylégzést mérő módszerekkel foglalkozik. Ide kívánczottnak volna a peroxyszomák szerepének ismertetése. A 9. fejezet excizált levéldarabokon végzett hosszantartó kísérletek módszerét mutatja be. Igen érdekes példa arra, hogy egy felületes szemléletre egyszerű koncepciójú módszer pontos kivitelezése mennyi körülményt igényel. Szempontjait excizált levelekkel folytatott rövidtartamú kísérletekben is célszerű figyelembe venni. A 10. és 11. fejezet áttekintést ad azokról a mutatószámokról, amelyekkel a fotoszintetikus apparátus produktivitása növényállományokban jellemezhető (LAI, LAR stb.). A 12. fejezet a növényállományokban uralkodó sugárzási viszonyok mérési módszereiről nyújt irodalmi áttekintést, a 13. fejezetben a CO_2 koncentráció változásait követő mikrometeorológiai eljárásokat mutatja be. A könyv 14. fejezete részletes útmutatást ad a sokszor bonyolult alakú növényi szervek felszínének meghatározására. A 15. fejezet a sztományilás méretének megállapítására alkalmas módszerekkel foglalkozó szakirodalom táblázatos felsorolása. A 16. fejezet a CO_2 diffúziójával foglalkozik a levél szövetében és a növényállományok belsejében, a 17. a levelek hőmérsékletmérésére szolgáló módszereket ismerteti. A klorofillmeghatározás módszereinek tömör kritikai összefoglalását nyújtja a 18. fejezet. A 19. fejezet a sugárzó energia mérésekor alkalmazandó elvi megfontolásokat és műszereket ismerteti.

A könyv gazdagon illusztrált. A blokkvázlatokat kritikus pontokon eredeti fotók egészítik ki.

A kézikönyv 36 szerzője az egyes témák aktív és kiemelkedő művelője. Ennek köszönhető a módszerek kritikai tárgyalása és az, hogy az experimentális munkában működő kutatók igényeit jól kielégíti.

Egészen bizonyos, hogy a fotoszintézis és a kísérleti ökológia területén dolgozó kutatók haszonnal forgatják, és általánosan elterjedt kézikönyvvé fog válni.

Dr. Faludi-Dániel Ágnes

J. Sybenga; General Cytogenetics (Általános citogenetika) 1972. North-Holland/American Elsevier, Amsterdam, London, New York p. 359.

A könyv a holland mezőgazdasági egyetemek hallgatói számára készült. A szerző az előszóban azt írja, hogy könyvével lehetőséget akart teremteni a hallgatóság számára, hogy önmaga meg tudjon ismerkedni a tudományág problémáival anélkül, hogy ehhez nagyobb-arányú segítségre lenne szüksége. A tudományág fő vonalait röviden kifejtő munkákat a szerző nem tartja elégségesnek az oktatáshoz, mivel ezek a tudományterületben való elmélyülést nem teszik lehetővé.

A szerző tehát a citogenetika egészéről kíván egy általános képet adni és ezt a feladatot művében sikerült is megvalósítani. Ezt két úton éri el: egyrészt a terület részproblémáival szisztematikusan és kiválóan rendszerezett formában foglalkozik, másrészt pedig minden témakörnél megmutatja a jelenség általános és specifikus formáit, tekintve, hogy a mikroszervezetek, a magasabbrendű növények és állatok, de az ember citogenetikai jelenségeivel is egyaránt foglalkozik. Ehhez a két sajátosságához még azt fűzném hozzá, hogy minden citogenetikai jelenségnek nemcsak a genetikai kapcsolatára, hátterére utal, hanem sokhelyen rámutat az evolúciós kapcsolatokra is.

A könyv fejezetei a következők;

1. fejezet. Alapháttér címet viseli és ebben a citogenetika alapvető tárgyával, a kromoszómákkal és azok biokémiai szerkezetével foglalkozik.

2. fejezet. Rekombináció. A jelenség alapjainak tárgyalásán belül különösen értékesnek tartom a crossing-over gyakoriságra ható különböző tényezők elemzését.

3. fejezet. Specializálódott kromoszómák. Ebben a fejezetben az óriás és lámpakefe kromoszómák mellett különösen az ivari kromoszómák ismertetésével foglalkozik részletesen.

4. fejezet. Strukturális kromoszóma variánsok. A fejezet a különböző kromoszóma aberrációk részletes elemzésével foglalkozik.

5. fejezet. Számszerű variánsok. A könyvének ez a legnagyobb fejezete, ami az aneuploidia és euploidia különböző problémáival foglalkozik. Ebben a fejezetben mind a poliploidok hasadási viszonyaival, mind a jelenség evolúciós hatásaival foglalkozik a szerző.

6. fejezet. Genetikai kromoszóma térkép. A kromoszóma térképezés eredményeit ismerteti a mikroszervezetekben és a magasabbrendű élőlényekben.

7. fejezet. Eltérő genetikai rendszerek. Itt speciális problémákat; apomixis, szomatikus hasadás, episzómák stb. ismertet.

A könyvet egy jól összeállított irodalomjegyzék egészíti ki.

A könyv ábraanyaga korszerű, oktatási szempontból a fekete-fehér ábrák mellett néhány színes modell beiktatása hasznos lett volna.

Dr. Bálint Andor

Clive M. McCay; Notes on the History of Nutrition Research („Feljegyzések a táplálkozástani kutatások történetéről”). Edited by F. Verzár. Hans Huber Publishers, Berne—Stuttgart—Vienna. 1973. DM 38,—; Fr. 42.

Professzor Clive McCay 1926–1961-ig egyetemi tanárként oktatott a Cornell Egyetem Táplálkozástudományi Tanszékén Ithacában (N. Y.). A táplálkozás történetéről írott könyvét még életében ki szerettte volna adni, azonban közbejött betegsége és 1967-ben bekövetkezett halála megakadályozta ebben. Verzár professzort kérték meg a munka szerkesztésével és sajtó alá rendezésével.

A szerző történeti áttekintést nyújt munkájában a táplálkozásról és a tápanyagok kémiajáról. Főként a zsírok, fehérjék és anorganikus anyagokkal kapcsolatos ismereteket foglalja össze az 1800-as évek előtti időtől a 20. század első harmadáig. McCay 30 éves munkássága van ebben a kötetben összegyűjtve. A könyv 234 oldal terjedelmű és 8 fejezetből áll.

Az I. fejezetben áttekintést kapunk a táplálkozás régebbi irodalmáról. Foglalkozik a szerző az 1800-as évek előtti irodalommal, valamint a 19. század táplálkozástani irodalmával.

A II. fejezetben elsősorban a táplálkozás három nagy problémájával és biokémiai problémákkal foglalkozik. A három nagy probléma, mely a 19. század elejét foglalkoztatta, a következő volt: az első összefüggött az állatok hizlalásával, melynek célja az volt, hogy a takarmány átalakuljon hússá és tejjé. A második probléma magába foglalta a levegő nitrogénjének és a talajban, növényekben és állatokban levő nitrogénnek a kapcsolatát, összefüggését. A harmadik probléma összefüggésben volt azzal az energiaforrással, mely az állati szervezetet működteti. Ebben a fejezetben áttekintést kapunk a zsíroknak a táplálkozásban betöltött szerepéről, a zsírok hasznosításáról, szintetizálásáról, a nitrogén felfedezéséről, szintéziséről, analitikai meghatározásáról, a növények és állatok szerepéről a nitrogén-problémában.

A III. fejezet foglalkozik a fehérjékkel és azok tápanyag-értékével. Ebben a fejezetben is áttekintést kapunk az 1800-as évek előtti idők fehérje kémiai ismeretéről, valamint a 19. század elején szerzett ismereteinkről. E mellett ebben a fejezetben részletesen elemzi Spallanzani emésztéssel kapcsolatos munkáját, valamint Baumont munkáját és következtetéseit.

A IV. fejezetben a fehérjékkel foglalkozik. Itt ismerteti az aminosavak felfedezésének jelentőségét, az aminosavak biológiai tesztelését, valamint a fehérjék kémiai szerkezetének analízisét.

Az V. fejezetben ismereti a fehérjéknek a pathológiában betöltött szerepét. Foglalkozik a haemoglobinnal, nucleoproteinnel, továbbá a nem fehérje eredetű nitrogén felhasználásával.

A VI. fejezetben az anorganikus anyagokkal kapcsolatos ismereteinket foglalja össze. Így foglalkozik a vassal, kalciummal, stronciummal, foszforral, a D vitamin felfedezésének jelentőségével, valamint az angolkórral.

A VII. fejezetben néhány szerző életrajzi adatát adja meg.

A VIII. fejezetben a szerzők indexét találjuk.

A könyvnek komoly jelentősége, hogy a régi táplálkozástudományi adatokat részleteiben összegyűjtötte és ismerteti, pontos adatokat kapunk a tápanyagok összetételére vonatkozó régebbi ismeretekről is. Ily módon a könyv értékes adatokat nyújt táplálkozási szakembereknek, azon kutatóknak, akik emberek és állatok tápanyag fogyasztását kutatják, biokémikusoknak és klinikusoknak.

Dr. Beregi Edit

Új biológiai folyóirat

1972-ben indult az „*Acta Alimentaria Academiae Scientiarum Hungaricae*” című folyóirat első évfolyama, amely a Magyar Tudományos Akadémia Élelmiszertudományi Bizottsága és a Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet közös gondozásában jelenik meg.

A folyóirat angol nyelven közöl eredeti tanulmányokat az élelmiszertudományok köréből. A tanulmányok a szerzők kutatási eredményeit tartalmazzák, és kiterjednek mind azokra a fizikai-kémiai, kémiai, biológiai, mikrobiológiai, enzimológiai, gépészeti, műszerezési és közgazdasági kutatásokra, amelyek az élelmiszertermelés, feldolgozás, tartósítás, csomagolás, tárolás és minősítés elvi alapjaival kapcsolatosak. A kiadvány tudományos és gyakorlati jellegű.

A folyóirat főszerkesztője; Dr. Vas Károly, az MTA levelező tagja.

A Szerkesztőség címe; Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

Az „*Acta Alimentaria*” negyedévenként jelenik meg, a négy füzet évente egy, több mint 400 oldalas kötetet képez.

A folyóirat megrendelhető az Akadémiai Kiadónál (1054 Budapest, Alkotmány utca 21).

Dr. Orbányi Iván

SZAKOSZTÁLYI HÍREK

AZ ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLY PROTOZOOLÓGIAI SEKCIÓ SZAKÜLÉSEI

16. szakülés

1972. szeptember 29. (Budapest, MTA kisterem). Jelenlevők száma; 22.

Elnök: Dr. Pellérdy László, Dr. Biczók Ferenc.

1. DR. BICZÓK FERENC: *Tetrahymena pyriformis* LG fényaktivált mozgás változásának összefüggése a mitochondrium szerkezet változásával.

Hozzászóló: DR. PELLÉRDY L., DR. LANTOS T.

2. DR. JANKÓ MÁRIA, DR. ZOLTAI LÁSZLÓ: *Összefüggések az ember és az állatok toxoplasmosisa között.*

Az emberben élő paraziták között a *Toxoplasma gondii* joggal nevezhető kozmopolitának. Ennek ellenére a protozoon biológiájáról aránylag kevés adattal rendelkezünk. Szaporodása, terjedési módja hiányosan ismert. A szerzők öt megye toxoplasma fertőzöttségét mérték fel szűrővizsgálattal. Több mint ezer pozitívnek bizonyult személynél az állattartást is megvizsgálták. Eredményeik alapján megerősítették azt a megállapítást, hogy a toxoplasmosis kifejezetten antropozoonózis. Az ember környezetében élő állatok közül a sertés és a kutya elsősorban proliferatív és cystás alak továbbvitelért, míg a macska a rezisztens formákkal történő fertőződésért felelős. Az állattartás Magyarországon is nagyobb számú toxoplasma fertőzöttséggel jár együtt.

Hozzászólók: DR. BICZÓK F., DR. PELLÉRDY L.

3. DR. LANTOS TIBOR, DR. CSABA GYÖRGY, DR. TÜRÖK OTTILIA: *A génrepresszió összefüggése a sejtek szociális viselkedésével.*

Szerzők *Tetrahymena pyriformis*-ban és csirkeszív tenyésztben vizsgálták a hiszton változásokat fast-green eosin, pikrinsav-brómfenolkék és Black—Ansley-féle ezüstimpregnációs módszerekkel. Kontroll festésként Feulgen-reakciót és metilzöld-pyronin festést végeztek.

A kísérletek azt mutatták, hogy a hisztonok jelenléte a sejtmagban szoros kapcsolatban áll a sejtek szociális viselkedésével. Az egyedi Tetrahymenában gyakorlatilag nincs jelen, ezzel szemben a mesterségesen (centrifugálással) közösségbe kényszerített sejtek magjában gyorsan megjelenik. Ebben az esetben is elsősorban azok a sejtek tartalmazzák, amelyek centrálisan helyezkednek el, tehát szabad felülettel nem rendelkeznek. A magasan organizált szövetek sejtjeinek izolálódása alkalmával fokozatosan eltűnik a hiszton. A kísérletek annak modelljeként is szolgálhatnak, hogy a sejtek közötti munkamegosztás kialakulásával a differenciálódás folyamán a gének hisztonok általi blokkolása hogyan következik be, és felhívják a figyelmet arra, hogy ennek bekövetkezéséhez az egyedi sejtek közösségbe kerülése is elegendő.

Hozzászóló: DR. BICZÓK F.

4. Közös megbeszélés a Protozoológiai Szekció helyzetéről és jövő perspektíváiról, a hazai kutatómunka tükrében.

17. szakülés

1973. március 2. (Budapest, MTA felolvasóterem). Jelenlevők száma; 18.

Elnök: Dr. Biczók Ferenc

1. DR. BICZÓK FERENC: *Metakromáziás jelenségek vizsgálata protozoákon*

Hozzászólók: DR. OLDAL I., DR. LANTOS T.

2. CSUTORNÉ DR. BEREZKY MAGDOLNA: *A Duna magyarországi szakaszának szaprobiológiai jellemzése csillós bioindikátorok segítségével.*

A Duna magyarországi szakasza 417 fkm hosszú. 1971-ben tavasszal, nyáron és ősszel vettünk 100 l víz átszűrésével planktonmintákat, 29 Duna menti helység körzetéből.

A vizsgálati eredmények szerint a Duna magyarországi szakaszát szaprobiológiai szempontból 3 részre oszthatjuk;

1. Az első és egyúttal a legszennyezettebb rész volt a vizsgált időszakban a Dunakilitől Szobig terjedő szakasz. Néha alfa-, alfa-poliszaprób társulásokat is megfigyelhettünk. Esetenként sem növényi, sem állati szervezetek jelenlétét sem sikerült kimutatni.

2. A Visegrád—Budapest közötti szakasz még béta-mezoszapróbnak mondható, de tendencia állapítható meg a víz minőségének romlása irányában.

3. A Budapest alatti szakasz kiemelkedően szennyezett része Soroksár, Ercsi, Dunaújváros és Baja. Itt béta-alfamezozsaprób, ősszel alfa-mezozsaprób indikátor fajok dominálnak egyedszám tekintetében. Az ország határáig, Mohácsig azonban a víz jelentős öntisztuláson megy keresztül, így itt már a jó minőséget jelző béta-mezozsaprób társulások uralkodnak.

Biológiai analízisek azt mutatják, hogy Magyarország szennyezettebb, azaz rosszabb minőségű vizet kap, mint amilyent mi továbbitunk Jugoszlávia felé.

Miután 1981-re megépül az ún. Európa-csatorna, amely a Rajna—Majna—Duna folyamokat összeköti, a zoológus szakembereknek nem egészen egy évtizedük van arra, hogy a ma még igazi Duna-fauna megismerésével támpontot adjanak a későbbiek során bekövetkező vízminőség változás előre jelzéséhez.

Hozzászólók: DR. FEHÉRVÁRI Ö., DR. LUKÁCS D., DR. GÁL D., DR. PÁL T., DR. BICZÓK F. 3. DR. RAJKÁNYI KATALIN; *Hidrogénion-koncentráció hatása az érzékenyített Tetrahymena pyriformis fényindukált mozgására.*

A fényindukált mozgásreakciók mind a magasabb rendűek, mind az egysejtűek körében előfordulnak. Az egysejtűek szinte egész sejtfelületükön képesek a fényugarak érzékelésére. A szerző kísérletei során vizsgálta, hogy a csillósok fényindukált mozgását milyen mértékben befolyásolja a közeg pH értékének változtatása. Vizsgálatait *Tetrahymena pyriformis* G. L. törzs steril tenyésztett egyedein végezte, pH 3—pH 9 közti tartományokban. Fényforrásként OSRAM HBO jelzésű, 200 W-os higanygőzlámpa szolgált.

A pH változásból adódó eltérések az állatok mozgássebességének különbözőségében jutottak kifejezésre. Viszonylag magas mozgássebességi értékek mutatkoztak a pH 7-es tartományban. Ettől, az állat számára optimális értéktől a savas és lúgostartományok szélső értékei felé haladva a mozgás sebessége észrevehetően csökkent: pH 4 alatt pedig a mozgás már nem volt mérhető. A csökkenő eredmények a mitochondriális membránrendszerben fellépő funkcionális, valamint szerkezeti károsodásokkal magyarázhatók. A membrán felépítésében ugyanis igen nagy szerepet játszanak a fehérje természetű enzimek, amelyek a pH változásokra érzékenyen reagálnak. A funkcionális és szerkezeti károsodásokra utalva megállapítható, hogy a pH és enzim aktivitás, valamint pH és polipeptid konformáció megváltozásával magyarázhatók az eltérő eredmények.

Hozzászólók: CSUTORNÉ DR. BEREZSKY M., DR. BICZÓK F.

4. DR. LUKÁCS DEZSŐ; *Varga Lajos és protozoológiai munkássága. Emlékezés halálának 10. éves évfordulóján.*

1973. május 10-én volt az évforduló. *Varga Lajos* professzor, akadémikus élettrajza és számos híres munkája közül protozoológiai kutatásai szerepeltek az előadásban.

Hozzászóló: DR. BICZÓK F.

5. DR. LANTOS TIBOR, DR. CSABA GYÖRGY: *Biogén aminok és aminosav típusú hormonok Tetrahymena phagocytosisára kifejtett hatásának összehasonlító vizsgálata.*

A kísérletekben a hisztamin 1 M és 10^{-6}-on M koncentrációi között a phagocytosisoefficiens csökkent. Legmagasabb értékét a 10^{-9} M koncentrációban érte el, de még 10^{-12} M esetében sem szállt le a kontroll értékre. A szerotonin phagocytosis növelő hatása 10^{-6} M koncentrációban kezdett mutatkozni és maximális értékét 10^{-7} — 10^{-8} M koncentráció között érte el, majd visszatért a kontroll értékre és a továbbiakban e körül maradt. Az indolilecetsav kezdetben gátolt, majd 10^{-5} M koncentrációban már megközelítette a kontroll értéket és minimális változásokkal gyakorlatilag végig ezen maradt.

A thyroxin esetében $1\text{ molostól } 10^{-20}\text{ molosig}$ hígított oldatokban lényeges kezdeti gátlás után 10^{-9}-en mol mellett érte el a phagocytosisoefficiens a kontroll értéket, majd 10^{-14}-en M és 10^{-16} M között jellegzetes serkentést eredményezett. Ezt követően hirtelen újból a kontrollnak megfelelő értéket kaptuk. A monoiodtirozin, a diiodtirozin, valamint a triiodtirozin közül elsősorban a monoiod- és diiodtirozin bizonyult hatásosnak 10^{-9} — 10^{-10} molos oldataiban.

Az adrenalinnak a *Tetrahymena phagocytosisára* kifejtett hatását vizsgálva erős kezdeti gátlás után a kontroll érték gyors elérése következett, majd 10^{-12} — 10^{-15} molos olda-

tokban a kontroll feletti, kismértékben emelkedő értékeket kaptunk, ezután ismét visszaállt a kontroll szint.

Szerzők a kapott eredményeket részletesen elemezték, majd megállapították, hogy a *Tetrahymena* sejt a közegében levő biogén aminokra, illetőleg aminosav típusú hormonokra általában a phagocytosis gyorsaságának megváltoztatásával reagál.

Hozzászóló: DR. BICZÓK F.

18. szakülés

1973. november 23. (Budapest, MTA képterem). Jelenlevők száma: 25.

Elnök: DR. BICZÓK FERENC

1. DR. JURÁNYI RÓBERT, DR. SZTOJKOVNÉ, DR. MISLÓCZKY MARGIT; *A testi fejlődés egyes indexeinek vizsgálata óvodás korú Giardia lamblia fertőzötteken.*

Hozzászóló: DR. WILIMSZKY Z., DR. BICZÓK F.

2. CSUTORNÉ, DR. BEREZKY MAGDOLNA; *Beszámoló a IV. Nemzetközi Protozoológiai Kongresszusról.*

Hozzászóló: DR. BICZÓK F.

3. DR. RAJKÁNYI KATALIN; *ATP hatása a fényindukált csillós mozgásra*

Kísérleti eredmények, valamint irodalmi adatok alapján ismeretes, hogy a csillós egysejtűek mozgását a fényingerek jelentősen befolyásolják. A csillósok fényindukált mozgása az állat mozgássebességének megváltozásában jut kifejezésre. A csökkent mozgássebesség azzal magyarázható, hogy a fény hatására az egysejtűek plazmájában, valamint mitochondriumai-ban károsodások lépnek fel. Mivel a csillós mozgás legfőbb energia szolgáltatója az ATP a mitochondriumokban szintetizálódik, ezek pedig károsodnak, így csökken annak a lehetősége, hogy a felhasznált ATP helyett új ATP szintetizálódjék. Ezeknek az adatoknak ismeretében a szerző vizsgálta, hogy a kívülről mesterségesen bejuttatott ATP milyen mértékben befolyásolja a fényindukált csillós mozgást.

A vizsgálatokhoz *Tetrahymena pyriformis* G. L. törzs steril tenyésztett egyedeit használta. A pH 7-es törzsolatban tartott tenyészethez 0,1% koncentrációjú ATP-t adott, a vizsgálat megkezdése előtt 1 órával. A mesterségesen adagolt ATP hatására a csillós egysejtűek mozgássebessége átmenetileg felerősödött. A mozgássebesség növekedésére magyarázatot ad a vizes oldatban levő ATP molekula fény hatására történő aktiválódása, továbbá, hogy az ATP hidrolizál ADP-re és foszfátra, miközben energia szabadul fel. A felszabadult energiát a sejt mechanikai működésére használja fel. A hidrolízis folyamata pedig a csillók külső filamentumának A-alrostjaihoz tapadó karokban lokalizálódik. Az átmeneti sebesség növekedés alapján feltételezhető, hogy a kívülről bejuttatott ATP hatásában nem teljesen egyenértékű a sejten belül szintetizált ATP hatásával.

Hozzászólók: DR. BICZÓK F., DR. LANTOS T.

4. DR. BICZÓK FERENC; *A Protozók környezetbiológiai szerepe, jelentősége.*

A szerző példákön mutatta be, hogy az egysejtű szervezetek fontos szerepet töltenek be a természetben mint vizek, talajok indikátorai, az élelemlánc fontos tagjai, mint endo- és ectoparaziták. Az újabb kutatások számos véglényokozta jelensége hazai kutatásaink ilyen irányú kiterjesztését sürgeti. Emellett mint phytopathogen gombák és baktériumok antagonistái is figyelmet érdemelnek. Ezek a jelenségek a rhizosphaera fokozott kutatásának kiterjesztését teszik időszerűvé annál is inkább, mert O₂-fogyasztásuk — ha időlegesen is — itt a legintenzívebb.

Hozzászólók: DR. LANTOS T., CSUTORNÉ DR. BEREZKY M., DR. BIERBAUER J.

5. DR. LANTOS TIBOR; *Magasabbrendűek hormonjainak hatása a Tetrahymena phagocytosisára.*

A *Tetrahymena* a közegében levő biogén aminokra, illetőleg aminosav típusú hormonokra a phagocytosis mértékének változtatásával differenciáltan reagált. A polipeptid típusú insulin a jelen vizsgálatok szerint a *Tetrahymena* phagocytosisát szintén jelentős mértékben serkentette. Valószínű, hogy a sejt életében létfontosságú phagocytosis érzékeny teszt, és gyorsasága váratlan hatásokra is változik. Az adatok a hormonreceptor kérdésének phylogenetikai megközelítésében jelentősek.

Hozzászóló: DR. BICZÓK F.

Dr. Lantos Tibor

AZ ÁBSZ SZÖVETENYÉSZTÉSI SZEKCIÓJÁNAK SZAKÜLÉSEI

Az Általános Biológiai Szakosztály keretében 1968-ban megalakult Szövettenyésztési Szekció főfeladatának két dolgot tekintett: megkísérelte összefogni hazánkban a szövettenyésztés legkülönbözőbb területein dolgozó kutatókat, és a szakosztály tagjai készítették elő az 1971-ben Budapesten megrendezésre kerülő Európai Szövettenyésztők Társaságának évi kongresszusát. Visszatekintve az elmúlt évekre, megállapíthatjuk, hogy a szakosztály mindkét feladatát sikerrel teljesítette. Az 1971-ben rendezett kongresszus, amelyen az előadások többségét hazai kutatók tartották, a hazai szövettenyésztők tekintélyét nagymértékben növelte. A félvélenként megrendezésre kerülő szakosztályi összejövetelek pedig folyamatosan igyekeznek tájékozódást nyújtani a hazai szövettenyésztési munkákról, továbbá segíteni a fiatal kutatókat a kezdeti nehézségek legyőzésében.

A szekció első összejövetelét 1969. április 10-én tartotta. A népes szakosztályi gyűlésen négy előadás, ill. beszámoló hangzott el. Olyan tagtársaink számoltak be munkáikról, akik már hosszabb ideje sikeresen tevékenykednek a szövettenyésztés területén.

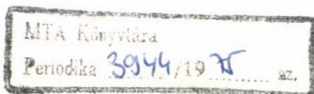
Így dr. Hadházy Csaba, a DOTE Szövet- és Fejldéstani Intézetből, dr. Rappay Györgyné, az Országos Idegsebészet Szövettenyésztési laboratóriumának, dr. Pályi István, az Onkopathológiai Kutató Intézet Szövettenyésztési laboratóriumának és dr. Gyévai Angéla, az MTA KOKI Szövettenyésztési laboratóriumának vezetője ismertették laboratóriumaik munka-programját és fő kutatási területeiket. Tagtársaink beszámolójából világossá vált, hogy hazánkban igen eredményesen dolgozó kollektívák vannak, amelyek elsősorban a különböző citosztatikumok, a különböző idegrendszeri eredetű tumorok és az endokrin szervek működésének in vitro vizsgálata területén értek el szép sikereket.

A Szekció 2. ülésén (1969. nov. 17-én) folytattuk beszámolóinkat. Dr. Ruzicska Péter az OKI és dr. Török Otília a SOTE Szövet- és Fejldéstani Intézetének Szövettenyésztő laboratóriumának vezetői ismertették az általuk vezetett munkacsoportok programját. A két nagy szövettenyésztési múlttal és tapasztalattal rendelkező laboratórium elsősorban a virológia területén (OKI), illetve a klasszikus szövettenyésztésnek a limfatikus szervek in vitro vizsgálataiban elért eredményeiről adott áttekintést. Dr. Ruzicska Péter elsőik között volt, aki hazánkban az első sejtvonalat felnőtt majom veséből kialakította, amely a vaccináció számos területén nyert alkalmazást. Az utóbbi években a laboratóriumban kromoszóma vizsgálatok folynak, amelyek elsősorban az emberi embriók kromoszóma rendellenességeit kívánják feltérképezni, különösen a gyakran előforduló spontán terheesség megszakadások esetében. A Szövet- és Fejldéstani Intézet Szövettenyésztő laboratóriumában hazánkban elsőként indult meg a sejtek mikrokinematográfiai vizsgálata, amely lehetővé tette, hogy elsősorban a timusz tenyésztett sejtjeinek viselkedését a filmkamera segítségével felfedje.

A harmadik szakülés 1970. május 19-én volt. Ezen a szakülésen a Szekció titkára, dr. Gyévai Angéla számolt be a Leidenben 1970 áprilisában megtartott Európai Szövettenyésztők Társaságának Kongresszusáról. A Kongresszuson a holland kutatók referáltak a szövettenyésztés területén végzett kutató munkájukról, Gaillard professzor vezetésével, aki egyúttal a társaság elnöke is. Intézetében elsősorban a mellékpajzsmirigy tenyésztésével és annak in vitro morfofiziológiai vizsgálatával foglalkoznak. A sok, igen színvonalas előadás igen szép filmvetítések tarkították. Feltűnő volt a Kongresszuson a növényi szövetek tenyésztésével foglalkozó kutatók szereplése. Hollandiában oly sokan dolgoznak a növény-szövettenyésztés területén, hogy érdemesnek látszott a társaságon belül egy külön szekciót alakítani számukra.

Ezen a szakosztályi gyűlésen tárgyalta meg a tagság a vezetőséggel együtt az 1971-ben Budapesten tartandó kongresszus — melynek elnöke és védnöke Törő Imre akadémikus volt — témáját, valamint technikai lebonyolítását. Megalakult az igen lelkes szervező gárda a kongresszus tudományos és technikai lebonyolításának biztosítására.

4. szakosztályi gyűlésünkön, 1970. dec. 10-én első ízben szerepeltek azok a tagtársaink, akik a növénytenyésztés területén dolgoznak hazánkban, továbbá két olyan előadásra is sor került, amely a mindennapi orvosi gyakorlattal függött össze. Az első témában dr. Maróthy Mihály: „Különböző vegyületek felvétele és hatása a növényi szövetek gyarapodására”, ill. dr. Kovács Ervin: „Az organogenezis gátlása genetikailag tumoros állapotú dohány szövettenyészetekben” című előadások hangzottak el. Ezek az előadások és a hozzájuk kapcsolódó vita alapján alakult ki a vezetőségnek azon álláspontja, hogy az 1971-es kongresszuson a hazai növény-szövettenyésztéssel foglalkozó kutatók is aktívan résztvegyenek. Dr. Sellyei Mihály „Triploid-sejt sporadikus előfordulása human fehérvérsejt tenyésztésben”, továbbá dr. Balázs Mihály és munkatársai: „Lymphoblastos transformatio krónikus májbetegségekben” című



előadásai a szövettenyésztés speciális területeiről, az orvosi gyakorlattal szorosan összefüggő problémák vizsgálati lehetőségeiről adtak felvilágosítást.

5. szekció ülésünk (1971. május 4—6.) programja tulajdonképpen az 1971-es kongresszussal volt azonos. A kongresszus a tenyésztett sejtek finomszerkezetével kapcsolatos problémát tűzte ki főirányként. Ebben a témakörben számos hazai és igen neves külföldi kutatók tartottak előadásokat. Az előadások tekintélyes része a *Symp. Biol. Hung.* 14. kötetében jelent meg dr. Törő Imre és dr. Rappay György szerkesztésében. A kongresszuson a hazai kutatók bebizonyították, hogy a nemzetközi színvonalnak megfelelőek a hazai szövettenyésztéssel kapcsolatos kutatások.

A szekció 6. ülésén (1971. nov. 10-én), dr. Gyévai Angéla számolt be a Milánói II. Nemzetközi Szövettenyésztési Tanfolyamról. A Tanfolyam tematikája a különböző emberi eredetű tumorok tenyésztési lehetősége, ill. a különböző citosztatikumok in vitro és in vivo alkalmazásának értékelése. Az elméleti előadásokat délután gyakorlatok egészítették ki, amelyeken igen hasznos tapasztalatokat és gyakorlati fogásokat lehetett elsajátítani. A lehetőségeknek megfelelően minden fiatal pályakezdőnek részt kellene venni hasonló jellegű kurzuson. A Szekció második felében kerekasztal konferencia formájában vitatták meg a jelenlévők a primér tenyészetekből kialakított passzálható sejtenyészetek (heteroploid, diploid) problémáját. Felkért hozzászólók; Gázsó Lenke, Ruzicska Péter, Oláh Edit, Pécsi Tibor és Gyévai Angéla voltak.

Az 1972. évi első félévi szakosztály összejövetelünk elmaradt, mert igen sok tagtársunk a tavaszi periódusban külföldön tartózkodott rövidebb-hosszabb ideig, ill. kongresszusokon adott elő. Az őszi 7. szekcióülésén (1972. nov. 15-én) ezekről a tanulmányutakról, ill. kongresszusokról számoltak be tagtársaink, éspedig dr. Pályi István egyéves angliai tanulmányútjáról, dr. Gázsó Lenke a bonni, dr. Török Otília a liège-i és Oláh Edit lengyelországi kongresszusokról.

Dr. Gyévai Angéla

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója
Műszaki szerkesztő: Sós Attila
A kézirat nyomdába érkezett: 1974. II. 14. — Terjedelem: 13,30 (A/5) ív
74.41 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

S. RÓZSA K.: A visszajelzések természete és jellemzése <i>Helix pomatia</i> diffúz miogén ritmusú szívében — The nature and characterization of feed-back mechanism in the heart of <i>Helix pomatia</i> with diffuse miogen rhythm — Ш. К. Рожка: Природа и характеристика механизма обратной связи в сердце имеющего диффузный миогенный ритм	3
PARÁDI E.: In vitro tenyésztett sejtvonal előállítása <i>Drosophila</i> embrióból — Production of in vitro cultivated cell line of <i>Drosophila</i> embryo — Э. Паради: Получение клеточной линии из эмбриона <i>Drosophila</i> , культивированной in vitro	11
KOVÁCS E. I., BOTHÁR A. DÓZSA-FARKAS K. és FALUDI B.: 2,4-D hatása a burgonyaszövettenyészetek izotóp-szulfát inkorporációjára — The effect of 2,4-D on the isotope sulphate incorporation of the potato tissue culture — Э. И. Ковач, А. Ботар и К. Дожа-Фаркаш: Действие 2,4-Д на инкорпорацию изотопных сульфатов в тканевой культуре картофеля	15
MARKÓ I.-né és BARANYI I.: Adatok a tavikagyló (<i>Anodonta cygnea</i> L.) központi idegrendszerének regenerációjához — Data on the regeneration of the central nervous system of the lake-mussel — Марко И. и Барани И.: Данные к регенерации центральной нервной системы болотных моллюсков (<i>Anodonta cygnea</i> L.)	21
BARANYI I.: A tavikagyló (<i>Anodonta cygnea</i> L.) neuroszekréciós tevékenységének elektronmikroszkópos vizsgálata ösztradiolpropionat hatására — Electron microscopic experiments on the neurosecretory activity of the lake-mussel (<i>Anodonta cygnea</i> L.) effected by oestradiol propionate — Барани И.: Действие эстрадиол-пропионата на нейросекреторную деятельность болотных моллюсков (<i>Anodonta cygnea</i> L.) Электронно-микроскопическое исследование	27
GYÉVAI A., RAPPAY GY., KONDICS L. és STARK E.: Hormontermelés és sejtosztódás felnőtt patkányok mellékvese sejtenyészetében — Hormone production and cell division of adrenal cells from adult rats in cell culture — А. Дьеваи, Д. Раппай, Л. Кондич и Э. Штарк: Выработка гормона и деление клеток в культуре тканей надпочечника взрослых крыс	31
TÖRÖK O. és CSABA GY.: Tengerimalacba implantált homológ thymus és thymus sejtszuszpenzió viselkedése — Characteristics of homolog thymus and thymus cell suspension implanted in guinea pig — О. Терек, Д. Чаба: Поведение гомологичного тимуса и суспензии клеток тимуса, имплантированных в морскую свинку	41
TÖRÖK O.: Megfigyelések egér thymus mellékvesével konfrontált szövet- és szervtenyészetein — Observations on mouse thymus tissue and organ cultures confronted with adrenals — О. Терек: Изучение совместного культивирования надпочечников и тимуса мышей в тканевой и органной культуре	45
DO, N. K., U. NAGY Zs. és CSABA GY.: Bázikus fehérjék és heparin hatása a <i>Xenopus laevis</i> korai fejlődésére — Effects of basic proteins and heparine on the early development of <i>Xenopus laevis</i> — Н. К. До, Ж. У. Надь и Д. Чаба: Влияние основных белков и гепарина на раннее развитие <i>Xenopus laevis</i>	55
U. NAGY Zs. és CSABA GY.: Adatok az előbél entoderma általános jódfelvevő képességéhez — Results on the systemic iodine uptake capability of protentoral entoderm Ж. У. Надь, Д. Чаба: Данные об общей способности накапливания йода энтодермой переднего кишечника	61
KAPA E.: Az idegentest óriássejtek vizsgálata a béka (<i>Rana esculenta</i>) thymusának szövettényezetében — Investigations on foreign body giant cells in the tissue culture of frog (<i>Rana esculenta</i>) thymus — Э. Капа: Изучение гигантских клеток чужеродного тельца в тканевой культуре тимуса лягушек (<i>Rana esculenta</i>)	65

LANTOS T. és CSABA GY.: Hormonok hatása a Tetrahymena pyriformis phagocytosisára — Hormonal effects on the phagocytosis of Tetrahymena pyriformis — Т. Лантош, Д. Чаба: Влияние гормонов на фагоцитоз Tetrahymena pyriformis	71
FISCHER E.: A béka máj pigmentsejt granulumainak kationcserélő tulajdonsága — Cation exchanging property of granules from liver pigment cells of frog — Э. Фишер: Свойства обмена катионов в гранулах пигментных клеток печени лягушек	79
DÉZSI L.: Aktinomicyn-D kezelés hatása a bablevél peroxidáz aktivitására — Effect of actinomycin-D on peroxidase activity of bean leaf — Л. Дежи: Влияние актиномицина Д на активность пероксидазы в листьях фасоли	87
H. NAGY A. és SZÉKELY S.: A fotoszintetikus szén ciklus enzimeinek vizsgálata zöldülő kukorica levelekben — The activity of the enzymes of the photosynthetic carbon cycle in greening maize leaves — А. Х. Надь, Ш. Секей: Изучение активности ферментов, участвующих в фотосинтетическом цикле углерода в зеленеющих листьях кукурузы	93
NAGY M.: Chromosoma aberratio és ontogenesis	99
BUJDOSÓ GY., BALOGH I., OTTÓ SZ. és CSONKA S.: Adatok a Klinefelter-syndroma genetikai, immunológiai és ultrastrukturális képéhez — Angaben zur genetischen, immunologischen und ultrastrukturellen Betrachtung des Klinefelter-Syndromas — Д. Буйдошо, И. Балог, С. Отто и С. Чонка: Данные к генетической, иммунологической и ультраструктурной картине синдрома КLINEФЕЛЬТЕРА	107
GYURJÁN I.: A kloroplasztisz genetikája. I. A plasztisz citológiai folytonossága és információs rendszere — Genetics of chloroplasts. I. Cytological continuity and informational system of the chloroplasts — И. Дьюрян: Генетика хлоропласта I. Цитологическая непрерывность пластов и их информационная система	113
GYURJÁN I.: A kloroplasztisz genetikája. II. A plasztisz fehérjeszintetizáló rendszere —	127

Könyvismertetés

FALUDI-DÁNIEL Á.: Plant Photosynthetic Production — Manual of Methods (Sestak, Z., Catsky, J. és Jarvis, J. G.)	143
BÁLINT A.: General Cytogenetics (Sybenga, J.)	144
BEREGI E.: Notes on the History of Nutrition Research (McCay, C. M.)	144
ORBÁNYI I.: Új biológiai folyóirat: „Acta Alimentaria Academiae Scientiarum Hungaricae”	145

Szakosztályi hírek

Az ÁBSZ Protozoológiai Szekciójának szakülései (Lantos T.)	147
Az ÁBSZ Szövettenyésztési Szekciójának szakülései (Gyévai A.)	150